



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **ENDOCANABINÓIDES: APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS**

Trabalho submetido por  
**Ana Luísa Nunes Vieira Fernandes**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Doutora Véronique Harrington Sena**

**Outubro de 2014**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **ENDOCANABINÓIDES: APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS**

Trabalho submetido por  
**Ana Luísa Nunes Vieira Fernandes**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Doutora Véronique Harrington Sena**

**Outubro de 2014**

À minha querida Mãe, a melhor do Mundo, que sozinha na batalha da vida me criou,  
acarinhou e educou, nunca me faltando com nada.

Que este trabalho simbolize mais uma conquista na tua, na nossa vida.

## **Agradecimentos**

O meu profundo agradecimento à Doutora Véronique Harrington Sena, minha orientadora, que verdadeiramente me apoiou na realização deste trabalho, estimulou o meu interesse e me deu ânimo para a sua finalização, com eficácia e prontidão em todas as sugestões críticas.

A todos os docentes do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, transmitiram conhecimentos de extremo valor, incentivando a pesquisa e a formação contínua, e que estimularam sempre a minha vontade de saber mais.

Agradeço ao Dr. Fernando Nestor e ao Tiago, que no decurso do estágio curricular em farmácia hospitalar me integraram com carinho e respeito, transmitiram conhecimentos que levarei para a vida profissional e pessoal, valorizando e desmonstrando interesse na minha experiência. Ao Dr. Telmo e Dr. Diogo, elementos fundamentais no meu processo de aprendizagem em farmácia comunitária, que me apoiaram e ensinaram a ser melhor e a querer ser mais ainda, a valorizar os conhecimentos adquiridos no MICF, e principalmente, a reconhecer que os activos mais importantes são as pessoas.

Agradeço à minha mãe, minha heroína, meu alento, exemplo de coragem e de fé. À minha irmã, sem o apoio da qual não teria tido a força, a persistência e paciência quando fraquejei, mas que principalmente abdicou de muito em meu prol. Aos meus queridos avós, pois não há casa que se sustente em areias movediças, vocês foram, são e serão os alicerces mais fortes e exemplares de sacrifício e amor que tenho.

Ao Ivo, o meu melhor amigo e minha metade, meu companheiro para a vida, agradeço o amor, carinho e admiração que me ergueram sempre. À Margarida, poderosa no exemplo de independência e auto-suficiência.

Aos amigos de sempre, exemplos de afecto e compreensão, Filipa, Nuno, Ana Catarina e Lina. Aos amigos não de sempre mas para sempre, que partilharam noites de estudo, saudades de casa, lágrimas na derrota e sorrisos na conquista: Zaida, Lara, Ana Teresa, Telma, Stephanie, Maria João e Ana Rita.

A todos os que de alguma forma cruzaram o meu caminho e me ensinaram, que me mostraram lado o bom e mau da vida.

Um saudoso agradecimento ao meu pai, pelo exemplo que foi, por ser a estrela que me guiou do céu, porque foi a quem pedi auxílio nos momentos de desespero.

### Resumo

As propriedades dos numerosos compostos da planta *Canabis sativa* L., comumente conhecida por canabis ou marijuana, têm sido ao longo das últimas décadas extensamente estudadas.

A descoberta de receptores para os canabinóides e dos endocanabinóides, sendo os principais a anandamida e 2-araquidonil-glicerol, sugeriu que estas moléculas poderiam ser importantes na fisiologia humana.

Verificou-se também que os níveis dos mesmos se encontram alterados em certas condições clínicas razão pela qual diversas abordagens terapêuticas foram e continuam a ser estudadas para modular este sistema devido a seu papel relevante em situações inflamatórias, imunitárias, demenciais, na fertilidade, nas doenças neurodegenerativas, entre outras.

Enormes conquistas foram já alcançadas nesta área científica atendendo aos obstáculos de ordem legal, burocrática e técnica que se foram erguendo. Contudo, há um longo caminho ainda a percorrer não só na compreensão do sistema endocanabinóide, a biologia inerente às patologias que poderão beneficiar da terapêutica canabinóide, e no que respeita aos efeitos adversos e sua dimensão.

**Palavras-chave:** Endocanabinóides; receptor endocanabinóide; canabinóides sintéticos; terapêutica canabinóide

### **Abstract**

The properties of numerous compounds of the plant *Cannabis sativa* L., commonly known as cannabis or marijuana, have been over the past decades extensively studied. The discovery of receptors for cannabinoids and of endocannabinoids, being the main anandamide and 2-arachidonoyl glycerol suggested that these molecules could be important in human physiology.

It was also found that the levels of these are altered in certain clinical conditions, which is why several therapeutic approaches have been, and continue to be studied to modulate this system due to its important role in inflammatory, immune, dementia, fertility situations, and neurodegenerative diseases, amongst others.

Tremendous achievements have been reached in this scientific area given the legal obstacles, bureaucratic and technical that were lifting order. However, there is still a long way to go in understanding not only the endocannabinoid system, biology inherent pathologies that may benefit from cannabinoid therapeutic, and with respect to adverse effects and their size.

**Keywords:** Endocannabinoids; endocannabinoid receptor; synthetic cannabinoids; cannabinoid therapeutic

## ÍNDICE

ÍNDICE .....	7
ÍNDICE DE FIGURAS .....	9
ÍNDICE DE TABELAS .....	9
LISTA DE ABREVIATURAS .....	10
1. INTRODUÇÃO .....	11
2. CANABINÓIDES .....	13
3. RECEPTORES CANABINÓIDES CB1 E CB2 .....	16
3.1. OUTROS RECEPTORES CANABINÓIDES .....	20
4. ENDOCANABINÓIDES .....	21
4.1. ANANDAMIDA .....	23
4.1.1. BIOSÍNTESE DE ANANDAMIDA .....	24
4.1.2. TRANSPORTE DE ANANDAMIDA .....	26
4.1.3. DEGRADAÇÃO DE ANANDAMIDA .....	28
4.2. 2-ARAQUIDONIL GLICEROL .....	29
4.2.1. BIOSÍNTESE DE 2-ARAQUIDONIL GLICEROL .....	29
4.2.2. DEGRADAÇÃO DO 2-ARAQUIDONIL GLICEROL .....	30
4.3. OUTROS ENDOCANABINÓIDES E LIGANDOS ANÁLOGOS .....	31
4.4. MECANISMO DE ACÇÃO DOS ENDOCANABINÓIDES: NEUROMODULAÇÃO E PLASTICIDADE SINÁPTICA .....	33
5. APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DOS ENDOCANABINÓIDES .....	36
5.1. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA EMESE .....	39
5.2. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA ANOREXIA E CAQUÉXIA .....	42
5.3. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA DOR CRÓNICA E ONCOLÓGICA .....	43
5.4. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA ESPASTICIDADE MUSCULAR .....	45
5.5. O USO DE ANTAGONISTA NA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA .....	47
5.6. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NO CANCRO .....	50
5.7. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA NEUROPROTECÇÃO .....	52
5.8. O USO DE ENDOCANABINÓIDES E PSICOPATOLOGIAS .....	54
5.9. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NO SISTEMA CARDIOVASCULAR .....	55
5.10. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NOS COMPORTAMENTOS ADITIVOS .....	58



5.10.1. DEPENDÊNCIA ALCOÓLICA .....	58
5.10.2. DEPENDÊNCIA CANABINÓIDE .....	59
5.11. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA INSÔNIA.....	60
5.12. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA FERTILIDADE E RELAÇÃO COM O SISTEMA REPRODUTOR.....	61
5.13. O USO DE ENDOCANABINÓIDES E A IMUNOACTIVIDADE .....	63
5.14. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NO CONTROLO DA EXCITABILIDADE NEURONAL .....	66
5.15. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA OSTEOPOROSE .....	68
6. EFEITOS ADVERSOS DOS CANABINÓIDES.....	69
7. CONCLUSÃO .....	70
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	71

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Cronologia da pesquisa desde a planta aos endocanabinóides.....	11
<b>Figura 2:</b> A planta Cannabis sativa.....	13
<b>Figura 3:</b> Expressão de receptores CB1 em diferentes localizações cerebrais.....	18
<b>Figura 4:</b> Estrutura química dos compostos endógenos com capacidade de ligação aos receptores canabinóides.....	22
<b>Figura 5:</b> Vias biossintéticas propostas para a anandamida.....	24
<b>Figura 6:</b> Supostas acções da FLAT nos neurónios.....	27
<b>Figura 7:</b> Processo de formação do 2-Araquidonilglicerol.....	29
<b>Figura 8:</b> Funções da Anandamida e 2-AG em diferentes receptores cerebrais.....	34
<b>Figura 9:</b> Processos fisiológicos em que está envolvido o SEC.....	38
<b>Figura 10:</b> Potenciais acções do Rimonabant na obesidade, metabolismo e efeitos secundários. Potenciação de sinais vagais de saciedade e da CCK.....	49
<b>Figura 11:</b> Efeitos dos Endocanabinóides e Canabinóides na carcinogénese.....	51

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Principais canabinóides.....	15
<b>Tabela 2:</b> Níveis de anandamida detectados em diferentes regiões na periferia e no SNC.....	33
<b>Tabela 3:</b> Funções neurotransmissoras sob controlo canabinóide.....	37
<b>Tabela 4:</b> Acções biológicas mediadas por receptores canabinóides e vanilóides nos eventos reprodutivos.....	62
<b>Tabela 5:</b> Efeitos dos endocanabinóides em diferentes funções imunitárias.....	63
<b>Tabela 6:</b> Principais efeitos indesejados dos Canabinóides.....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AEA:</b> Anandamida	<b>MAGL:</b> Monoacil-glicerol lipase
<b>AMPc:</b> Adenosina monofosfato cíclica	<b>MAPK:</b> Proteína cinase activada por mitogénio
<b>AM<sub>T</sub>:</b> Transportador membranar de AEA	<b>NADA:</b> N-araquidonil dopamina
<b>CB1:</b> Receptor canabinóide tipo 1	<b>NAEs:</b> N-acil-etanolaminas
<b>CB2:</b> Receptor canabinóide tipo 2	<b>NA-liso-PE:</b> N-araquidonil-liso fosfatidiletanolamina
<b>CBD:</b> Canabidiol	<b>NAPE:</b> N-araquidonil-fosfatidil etanolamina
<b>CBG:</b> Canabigerol	<b>NAT:</b> N-acil-transferase
<b>CBN:</b> Canabinol	<b>NT:</b> Neurotransmissor
<b>DSE:</b> Excitação suprimida por despolarização	<b>ODA:</b> Oleamida
<b>DSI:</b> Inibição suprimida por despolarização	<b>PEA:</b> Palmitoiletanolamina
<b>DAG:</b> Diacil glicerol	<b>PI:</b> Fosfatidil inositol
<b>DAGL:</b> Diacil glicerol lipase	<b>PPAR:</b> Receptor activado por proliferador de peroxissoma nuclear
<b>EC:</b> Endocanabinóide	<b>SEC:</b> Sistema Endocanabinóide
<b>FAAH:</b> Amida hidrolase de ácidos gordos	<b>SNC:</b> Sistema Nervoso Central
<b>FLAT:</b> Transportador de anandamida tipo FAAH	<b>THCV:</b> Tetrahydrocanabivarina
<b>GABA:</b> Ácido- $\gamma$ -aminobutírico	<b>TH-ir:</b> Tirosina Hidroxilase-imunoreactiva
<b>HEA:</b> Homo - $\gamma$ -linolenil etanolamida	<b>TRPV<sub>1</sub>:</b> Receptor de potencial transitório vanilóide tipo 1
<b>Liso-PLD:</b> Liso-fosfolipase D	<b>2-LIP:</b> 2-Araquidonil lisofosfolípido
<b>LTD:</b> Depressão a longo prazo	<b><math>\Delta^9</math>-THC:</b> Delta-9-tetrahydrocanabinol
<b>LTP:</b> Potenciação a longo prazo	
<b>2-AG:</b> 2 – Araquidonil-glicerol	
<b>2-AGE:</b> 2 - Araquidonil gliceril éter	

## 1. INTRODUÇÃO

A marijuana ou *Cannabis sativa* L. contém aproximadamente 500 compostos diferentes sendo cerca de 60 compostos canabinóides. O principal composto psicoactivo da cannabis, o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) foi isolado em 1964. A presença de receptores no cérebro para estes canabinóides levou à descoberta de canabinóides endógenos, chamados endocanabinóides, como a Anandamida e o 2-Araquidonil-glicerol nos anos 90. Pode constatar-se (ver fig.1) que a pesquisa neste campo se dividiu fundamentalmente em três fases: primeiramente, o interesse incidiu na planta e suas propriedades, seguindo-se a pesquisa dos canabinóides que a constituiriam e que estariam na base da sua actividade terapêutica e, por fim, o estudo e análise dos endocanabinóides (Di Marzo, 2006).

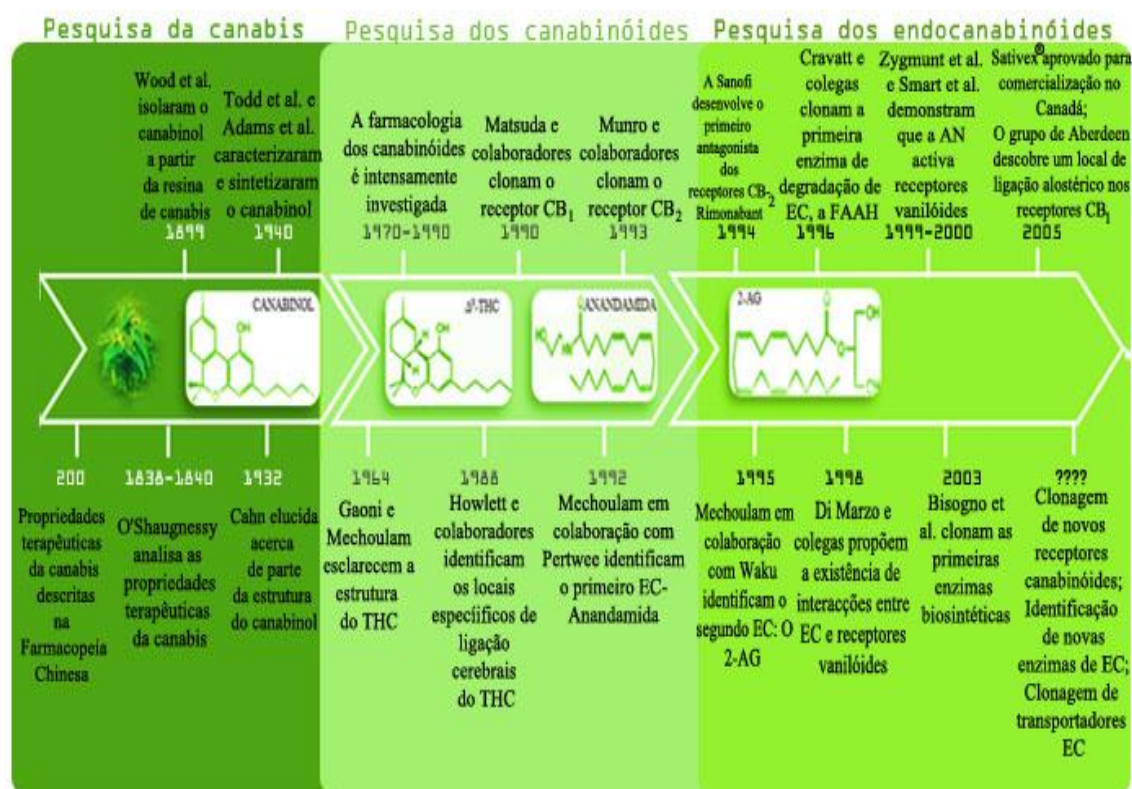


Figura 1: Cronologia da pesquisa desde a planta aos endocanabinóides.

Adaptado de Di Marzo (2006)

Esta monografia tem como objectivo uma revisão actualizada sobre os endocanabinóides, as suas funções no corpo humano e seu potencial uso na terapêutica, para diversas patologias.

Serão abordados nos primeiros capítulos a descoberta dos canabinóides e distribuição dos seus receptores, os compostos endógenos de ligação mais conhecidos, considerados *major*, mas também aqueles considerados *minor*, seu metabolismo e mecanismo de acção.

Em segunda instância, incidir-se-á na terapêutica utilizada actualmente neste sistema e as perspectivas de desenvolvimento farmacológico neste campo em diversas condições fisiopatológicas.

Para a pesquisa bibliográfica na concretização deste trabalho, recorreu-se a bases de dados no PubMed, B-on, Elsevier Science Direct, Scielo e Web of Knowledge, pesquisando-se os temas *cannabinoids*, *endocannabinoids*, *anandamide*, *2-araquidonoyl-glycerol*, *therapeutics and cannabinoids*, *cannabis*, *cannabinoids-based-medicines*.

Refere-se ainda que este trabalho não segue o novo acordo ortográfico da Língua Portuguesa.

## 2. CANABINÓIDES

Desde os tempos primórdios da humanidade a planta *Cannabis sativa* L., muito conhecida como marijuana, tem sido utilizada para os mais variados fins, quer na indústria têxtil, produção de cordas, utilização cosmética, na alimentação e em medicina (Decorte, 2011).



**Figura 2:** A planta *Cannabis sativa*.

*Retirado de Proença da Cunha & Roque, 2009*

Importada para o ocidente através das tropas de Napoleão Bonaparte que regressavam de África, ganhou grande destaque pela criação do “*Club des Hachiscins*” e, estando associada à criatividade, foi usada durante milénios para propósitos recreativos. Contudo, no seio da comunidade médica, a marijuana era reconhecida para aliviar a dor e possuidora de propriedades antiespasmódicas (Piomelli, 2003).

Ainda que usada na medicina, por pelo menos 3000 anos, e estando inclusa na Farmacopeia Britânica em 1948, foram sempre atribuídos à marijuana efeitos psicotrópicos, nomeadamente alucinogénios, eufóricos e de relaxamento. Com a crença de que seria também uma substância capaz de induzir elevada dependência, foi discutida a sua ilicitude em vários encontros internacionais, acabando por integrar efectivamente o espólio de drogas ilícitas, com consequente criminalização da sua posse, tráfico e cultivo a partir de 1961 na Convenção das Nações Unidas sobre os narcóticos (Bewley-Taylor & Jelsma, 2012; Nutt, King & Nichols, 2013).

A proibição do uso de canabis (exceptuando a Holanda onde o seu uso se encontra despenalizado) só não é extensível no que concerne à sua utilização para fins científicos e medicinais (onde é permitida em 20 estados dos EUA), estando a autorização para tal sob a alçada de agências governamentais (Proença da Cunha & Roque, 2009; Nutt et al., 2013). Contudo, o facto de ser passível de utilização na investigação científica não é

motivo para desconsiderar os longos entraves burocráticos e legais cruzados pelos investigadores que constituem, em grande parte, um dos motivos para a estagnação e atraso no que respeita ao estudo dos canabinóides e seu potencial terapêutico (Nutt et al., 2013; Bostwick, 2014).

Actualmente, a marijuana é a droga ilícita mais consumida no mundo, estimando-se os seus consumidores em 4,5% da população mundial adulta, despoletando controvérsia social, legal e médica em relação à sua utilidade terapêutica (Luis, Costa, Maia, Villares & Fernandez, 2011; De Petrocellis et al., 2011; Gates, Albertella & Copeland, 2014).

Durante séculos, as bases moleculares e biológicas da utilização medicinal e recreativa da *Cannabis sativa* permaneceram desconhecidas. De facto, demorou muito mais tempo para que se identificassem os componentes naturais responsáveis pelos seus efeitos farmacológicos do que para chegar à identidade química do princípio activo do ópio (De Petrocellis & Di Marzo, 2009).

As propriedades psicoactivas, o seu uso recreativo como potente inebriante e o suposto valor terapêutico desta planta começam por ser abordados por volta do século XIX, quando surge a pesquisa da química dos princípios activos de produtos naturais. Nesta altura, a morfina, cocaína e estricnina (alcalóides), encontravam-se estudados e caracterizados, enquanto a maior parte dos terpenóides, como é o caso das moléculas da *Cannabis sativa* L. não tinham ainda sido isolados (Mechoulam & Hanus, 2000).

Neste sentido, a primeira conquista que almejava a explicação e estudo das acções farmacológicas desta planta, centrou-se nos seus dois metabolitos secundários mais abundantes: o canabidiol (CBD), isolado em 1963, seguido do  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) isolado em 1964 (De Petrocellis & Di Marzo, 2009; Di Marzo & Pop, 2004). São 66 os canabinóides presentes na *Cannabis* spp. estando os mesmos caracterizados como derivados de estrutura diterpénica, e acompanhados de variados compostos de entre os quais flavonóides, fitoesteróis, vitamina K, carotenos, ácidos gordos, aminoácidos, entre outros, e que perfazem os cerca de 500 compostos que se sabem ser constituintes da planta (Di Marzo & Pop, 2004; Luis et al., 2011).

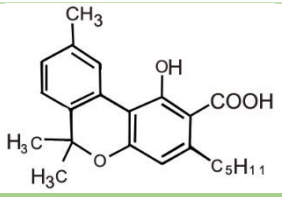
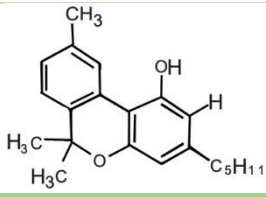
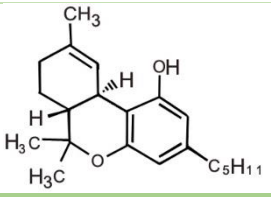
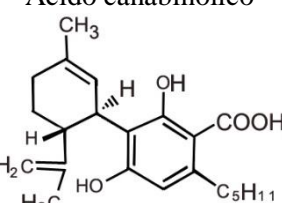
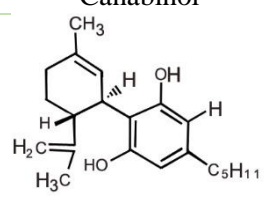
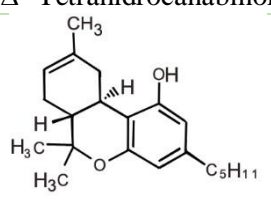
O vagaroso avanço nas pesquisas tem origem no elevado número destes canabinóides, presença em quantidades diminutas, na dificuldade de seu isolamento devido à natureza resinosa e não cristalina dos terpenóides, mas principalmente e, como já mencionado, nos assuntos regulamentares que controlam as substâncias consideradas de abuso

exigindo extensos protocolos burocráticos e financeiros (Goutopoulos & Makriyannis, 2002; De Petrocellis et al., 2011; Nutt et al., 2013).

De entre os vários canabinóides da planta, os mais estudados são o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC), canabidiol (CBD), canabinol (CBN) e  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarina ( $\Delta^9$ -THCV) (De Petrocellis et al., 2011). Para além destes Proença da Cunha & Roque (2009) acrescentam o ácido canabinólico, o ácido canabidiólico e o  $\Delta^8$ -THC como principais canabinóides, apresentados na tabela 1.

**Tabela 1:** Principais canabinóides.

*Adaptado de Proença da Cunha & Roque (2009)*

		
Ácido canabinólico	Canabinol	$\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol
		
Ácido canabidiólico	Canabidiol	$\Delta^8$ -Tetrahydrocannabinol

O  $\Delta^9$ -THC isolado, purificado e com estrutura identificada em 1964 por Raphael Mechoulam e Gaoni é o canabinóide mais estudado, e é a ele que se devem os efeitos psicotrópicos que colocam a *Cannabis sativa* no topo da lista de substâncias ilícitas mais consumidas mundialmente (Goutopoulos & Makriyannis, 2002; Mechoulam, Fride & Di Marzo, 1998; Di Marzo & Pop, 2004).

Dos restantes canabinóides considerados *minor*, como o canabigerol (CBG) ou a tetrahydrocannabivarina (THCV) pouco se conhece do seu mecanismo de acção; descobriu-se recentemente que o primeiro tem a capacidade de activar adrenoreceptores  $\alpha_2$  e de bloquear proteínas G acopladas a receptores CB1 e 5HT<sub>1A</sub>, e que o segundo é antagonista dos receptores CB1 e CB2 a baixas doses mas é agonista dos receptores CB2 em doses elevadas, tendo demonstrado poder anti-inflamatório e hiperalgésico em ratinhos (De Petrocellis et al., 2011).



### 3. RECEPTORES CANABINÓIDES CB1 E CB2

Ainda que se compreendessem as acções e efeitos comportamentais, neuroquímicos e neurofisiológicos induzidos pelo tetrahydrocannabinol, até ao ano de 1980, pouco se conhecia dos seus mecanismos de acção.

A natureza fortemente hidrofóbica do  $\Delta^9$ -THC sugeria que os efeitos observados para este composto se deviam à perturbação não específica da membrana celular. Porém, quando se sintetizaram os enantiómeros do tetrahydrocannabinol e seus análogos, descobriu-se a sua enantioselectividade, e, assim sendo, foi sugerida pelo grupo de Howlett em 1984, a existência de locais de ligação específicos para os canabinóides, que foram identificados em 1988 no cérebro de rato, por Devane e colaboradores (De Petrocellis & Di Marzo, 2009; Mechoulam et al., 1998; Goutopoulos & Makriyannis, 2002).

Os receptores canabinóides, amplamente expressos e distribuídos nos tecidos de mamíferos foram nomeados CB1 e CB2 (De Petrocellis et al., 2011; Pertwee, 1997). A designação CB, referindo-se a *cannabinoid binding*, foi atribuída pela IUPHAR Subcomité para a Classificação e Nomenclatura dos Receptores canabinóides (Pertwee, 1997).

Matsuda e colaboradores clonaram o receptor canabinóide CB1 a partir de cérebro de rato em 1990 e, em 1993, Munro e colegas identificaram o receptor periférico CB2 ao nível do baço. O receptor CB2 demonstra em relação ao CB1 uma homologia de 44%, partilhando ambos a sua identidade nos domínios transmembranares em 68% (Mechoulam et al., 1998; Piomelli, 2003; Bisogno, Ligresti & Di Marzo, 2005).

Os CB1 são expressos a nível do sistema nervoso central como no hipocampo, córtex de associação, núcleos da base e cerebelo (no qual a distribuição está associada às propriedades farmacológicas e psicotrópicas de  $\Delta^9$ -THC e de outros canabinóides), distribuindo-se também em tecidos periféricos, gânglio raquidiano e nervos periféricos, ao nível do sistema imunitário, no aparelho reprodutivo, gastrointestinal e pulmonar, na medula óssea, no coração, no músculo liso e endotélio vascular. Por seu turno, os receptores canabinóides CB2 encontram-se em abundância no sistema imunitário, particularmente nas amígdalas, baço, macrófagos e linfócitos B e NK, mas também a nível cerebral em baixas quantidades (Di Marzo, 2009; Bisogno et al., 2005; Goutopoulos & Makriyannis, 2002). Ambos desempenham funções no que respeita ao desenvolvimento neuronal, controlo da inflamação, função no sistema cardiovascular,

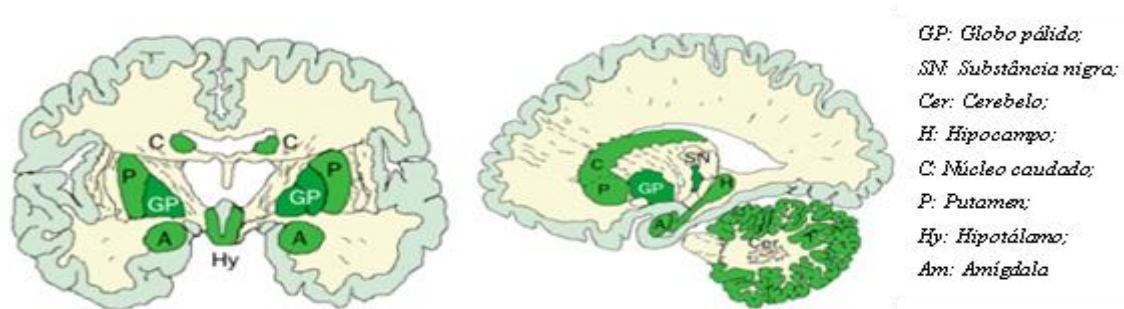
respiratório, reprodutivo e endócrino, na formação óssea e metabolismo ósseo, no metabolismo energético, bem como funções celulares tais como o controlo da arquitectura celular, proliferação, motilidade, apoptose e adesão (Di Marzo, 2009).

Existem quatro sintomas descritos em roedores frequentemente utilizados na definição de sobreactivação de receptores por canabinóides (intoxicação), sendo eles: hipotermia, imobilidade rígida, analgesia, actividade motora diminuída, que são ausentes em estudos de ratos *knock-out* em CB1 (Piomelli, 2003).

Estes receptores são proteínas de domínio transmembranar, concretamente sete proteínas, acopladas a proteínas G do tipo  $G_{ai/o}$ , nomeadas assim pela sua sensibilidade à toxina *pertussis* (causadora de tosse convulsa que tem capacidade de levar à activação persistente destas proteínas G). O mecanismo de transdução deste receptor inclui inibição dos canais de  $Ca^{2+}$  voltagem-dependente, activação de diversos tipos de canais de  $K^+$ , inibição da actividade da adenilato ciclase com consequente diminuição nas concentrações de AMPc citosólico e inibição das proteínas cinases A (PKA). Após intensiva pesquisa no tema, postulou-se que a inibição dos canais de  $Ca^{2+}$  (do tipo L, N, P/Q) resulta da interacção directa entre a sub-unidade  $\beta$  da proteína G com estes canais promovendo uma diminuição na libertação de GABA no hipocampo e de glutamato no estriado dorsal, que pode estar na base da depressão mediada por CB1. Contudo a diminuição da libertação destes neurotransmissores também é devida à abertura de canais de  $K^+$  controlados pelos EC (Piomelli, 2003; Vemuri & Makriyannis, 2009).

Estão descritas outras vias de sinalização dos receptores como sejam a activação da proteína cinase activada por mitogénio (MAPK), regulação da fosfatidil-inositol-cinase-3 e da proteína-cinase-B por activação de CB1 que estimula a actividade destas, e a sinalização através da ceramida como 2º mensageiro (Bisogno et al., 2005; Vemuri & Makriyannis, 2009; Pertwee, 1997).

A localização cerebral dos receptores (fig.3) não se encontra homogeneamente distribuída, concentrando-se preferencialmente nas áreas onde são observáveis os efeitos característicos dos canabinóides, particularmente na cognição e memória a curto prazo (córtex e hipocampo) e na função motora (núcleos da base e cerebelo).



**Figura 3:** Expressão de receptores CB1 em diferentes localizações cerebrais.

*Adaptado de Baker, Price, Giovannoni & Thompson (2003)*

No córtex de roedores e humanos, os receptores CB1 encontram-se nos terminais axónicos dos interneurónios GABA. Este padrão de expressão é predominante no neocórtex, hipocampo e amígdala, mas também em níveis elevados nos núcleos da base. No estriado, localizam-se ao nível de três elementos neuronais distintos: terminais glutamatérgicos de origem cortical, interneurónios locais e terminais de neurónios de projecção gabaérgicos. No cerebelo, o CB1 está presente em terminais excitatórios fibrosos assim como nos interneurónios gabaérgicos. Em menor número, encontram-se também no tálamo, hipotálamo, tronco cerebral, bulbo e espinhal medula. São ainda expressos em neurónios sensoriais periféricos (Piomelli, 2003).

Por isso, os EC estão envolvidos no controlo da libertação do GABA (principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central) e do glutamato (principal neurotransmissor excitatório), mas não só. A estimulação dos receptores dos terminais nervosos pré-sinápticos leva à supressão da libertação neurotransmissora dos terminais centrais e periféricos, tendo Pertwee (1997), na sua extensa pesquisa relativa aos receptores constatado que a supressão de libertação de acetilcolina se dá no hipocampo de rato e no intestino delgado de porquinho-da-índia, de norepinefrina no coração de rato, norepinefrina e/ou acetilcolina na bexiga de rato e norepinefrina e/ou ATP (adenosina trifosfato) no canal deferente de rato.

Tal como o CB1, o CB2 demonstra ser específico, saturável, com elevada afinidade para os seus ligandos, mas, ao contrário do primeiro, não revelou ser acoplado a canais iónicos e a sua sequência proteica demonstra grande variação inter-espécies pelo menos no que concerne à comparação entre receptores humanos e de rato (Pertwee, 1997; Vemuri & Makriyannis, 2009).

Os receptores CB1 e CB2 em conjunto marcam presença no sistema imunitário, presumivelmente na mediação da imunossupressão induzida por canabinóides e possivelmente exercendo também efeitos anti-inflamatórios (Pertwee, 1997).

As estruturas da glia (astrócitos, microglia e oligodendrócitos) também revelaram expressar receptores canabinóides, locais nos quais CB1 actuam na decisão de morte ou sobrevivência celular astrocítica. A remielinização subsequente à lesão inflamatória relaciona-se com o envolvimento de relevância dos receptores CB1 e CB2 nestes processos, com participação activa de CB2 nos eventos de migração e /ou proliferação microglial (Pazos, Núñez, Benito, Tolón & Romero, 2005).

Acredita-se que na glia do sistema nervoso central do homem, os receptores CB2 são unicamente expressos na microglia, sendo revelado pelos ensaios laboratoriais estar presentes tanto em condições patológicas como no cérebro saudável (Pazos et al., 2005). Contrariamente aos receptores CB1, os receptores CB2 parecem ser localizados no elemento pós-sináptico, regulando a excitabilidade neuronal através de mecanismos singulares bem como através sinalização canabinóide mais tradicional (Sharkey, Darmani & Parker, 2014).

Recentemente, Bénard et al., estudaram uma nova localização para os receptores canabinóides, na mitocôndria. Concluíram que 30% das mitocôndrias neuronais possuem CB1 e que os canabinóides endógenos estão capacitados de suprimir o complexo I da cadeia transportadora de electrões e a respiração mitocondrial (Alger & Tang, 2012).

### 3.1. OUTROS RECEPTORES CANABINÓIDES

Alguns dos efeitos despoletados por canabinóides persistem em ratos isentos de receptores CB, por isso, outros locais de ligação foram pesquisados e os dados bioquímicos e farmacológicos demonstraram a existência de receptores não-CB1 e não-CB2 activados *in vitro* (Piomelli, 2003; Bisogno et al., 2005).

O receptor mais estudado é o receptor de potencial transitório vanilóide tipo 1 (TRPV<sub>1</sub>), previamente descoberto como sendo o receptor onde actua a capsaïcina (Di Marzo & De Petrocellis, 2012). Pode suceder que receptores CB1, CB2 e canais TRPV<sub>1</sub> sejam expressos em concomitância, nas células neuronais e não neuronais. A co-expressão entre o TRPV<sub>1</sub> e um ou ambos os subtipos de receptores canabinóides proporcionam diversos efeitos farmacológicos consequentes da sua activação pelos mediadores endógenos (Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

No início do presente ano, Penumarti & Rahman-Abdel, descobriram um novo receptor, a GPR18, localizado nos neurónios tirosina hidroxilase imunorreactivos (TH-ir) na porção rostro ventrolateral do bulbo raquidiano.

A generalidade dos receptores considerados alternativos não provaram, todavia, a existência de acções farmacológicas e biológicas *in vivo*, e sabe-se não existirem à data homólogos de CB1 e CB2 nos mamíferos activados pelo THC (Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

#### 4. ENDOCANABINÓIDES

Com a descoberta dos receptores, colmataram-se algumas dúvidas existentes relativas ao mecanismo de acção do THC, e o desenvolvimento de moléculas agonistas e antagonistas tornou-se possível, permitindo assim a pesquisa de ligandos endógenos (Mechoulam & Hanus, 2000; Piomelli, 2003; De Petrocellis et al., 2011; Pertwee, 1997).

Os mediadores químicos endógenos análogos do composto canabinóide exógeno  $\Delta^9$ -THC, chamados os endocanabinóides (EC) constituem uma família de mensageiros lipídicos, sintetizados sob demanda (são sintetizados quando ocorre um estímulo para que tal suceda) a partir de ácidos gordos (eicosanóides) através da clivagem de precursores da membrana celular (Piomelli, 2003; Vemuri & Makriyannis, 2009).

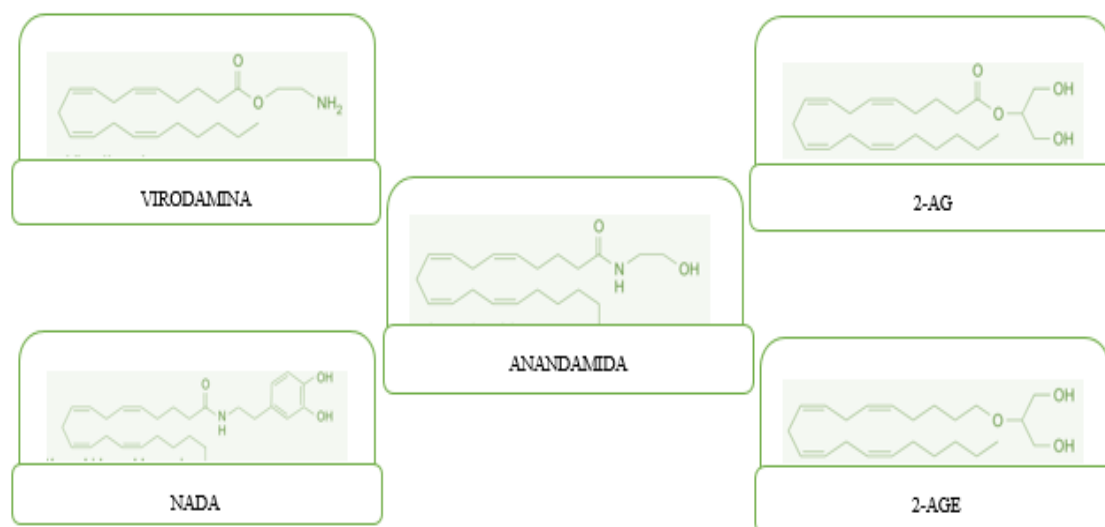
Reúnem três critérios para que possam ser considerados neurotransmissores: são produzidos de modo dependente de estímulo pelos neurónios no SNC, modulam a transmissão sináptica e são rapidamente desactivados (Clapper, Mangieri & Piomelli, 2009).

Actualmente, e no seguimento de duas décadas de pesquisa, o sistema endocanabinóide (SEC) (que encerra em si receptores canabinóides, endocanabinóides e proteínas responsáveis pela sua síntese e inactivação) tem sido amplamente pesquisado, visando a sua melhor compreensão e explorando as vastas possibilidades terapêuticas consequentes da funcionalidade deste sistema (Bisogno et al., 2005; Piomelli, 2003).

Sabe-se hoje tratar-se de um sistema filogeneticamente conservado que ocorre transversalmente entre espécies vertebradas e invertebradas (Di Marzo & De Petrocellis, 2012; Fride, 2002).

Os canabinóides endógenos não se encontram armazenados em células, sendo sintetizados e libertados somente na sequência de estímulos patológicos ou fisiológicos, em resposta ao aumento da concentração do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular e actuam como mediadores autócrinos e /ou parácrinos perto do seu local de biossíntese (Hillard, 2000; Vemuri & Makriyannis, 2009; Bisogno et al., 2005). A diferença na eficácia para os receptores CB1 e CB2 entre os mais estudados EC está nas características bioquímicas que conduzem a diferenças funcionais (Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

Os endocanabinóides *major* são a araquidoniletanolamina ou anandamida (AEA) e o 2-araquidonil glicerol (2-AG), existindo contudo outros EC considerados *minor* (ver fig.4).



NADA: N-araquidonil dopamina; 2-AG: 2- araquidonil glicerol; 2-AGE: 2- araquidonil glicerol éter

**Figura 4:** Estrutura química dos compostos endógenos com capacidade de ligação aos receptores canabinóides.

*Adaptado de Piomelli (2003) e de Mechoulam & Hanus (2000)*

#### 4.1. ANANDAMIDA

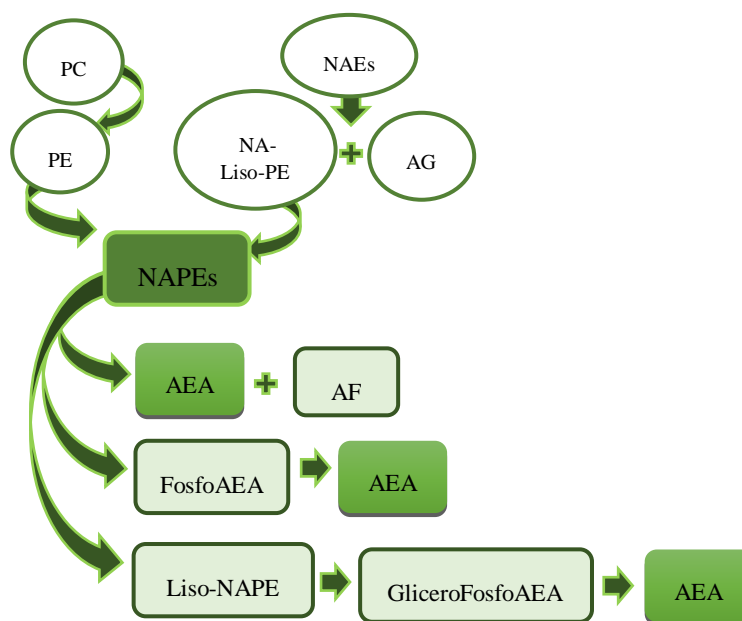
Apesar de extremamente lábil, o isolamento do primeiro endocanabinóide foi realizado por Mechoulam e colaboradores, que se basearam na lipofilia e lipossolubilidade de fitocanabinóides e canabinóides sintéticos (Mechoulam et al., 1998).

Contrariamente ao expectável, atendendo ao que sucedera na descoberta dos péptidos opiáceos, este primeiro composto-tipo THC, revelou ser um lípido e não um péptido. Este lípido identificado como sendo a amida do ácido araquidónico com a etanolamina, designou-se Anandamida (AEA), palavra com etimologia no sânscrito *ananda* que significa êxtase, puro contentamento e alegria interior, assim denominada pelo grupo de Mechoulam (Mechoulam & Hanus, 2000). Esta pequena molécula lipídica partilha as suas características estruturais com os eicosanóides (família de compostos que derivam da oxigenação enzimática do ácido araquidónico, tendo como exemplos as prostaglandinas, leucotrienos e lipooxigenases) mediadores da inflamação e da dor com variadas funções na comunicação neuronal (Piomelli, 2003).



#### 4.1.1. BIOSSÍNTESE DE ANANDAMIDA

No decurso da descoberta da AEA e suas propriedades canabimiméticas, o primeiro passo rumo à compreensão do seu papel neurofisiológico, foi a busca dos seus mecanismos de síntese e de inativação no SNC (Di Marzo, Melck, Bisogno & De Petrocellis, 1998).



PE: Fosfatidiletanolamina; PC: Fosfatidilcolina; NAEs: N-acil-etanolaminas; NAPEs: N-araquidil-fosfatidiletanolaminas; NA-liso-PE: N-acil-liso-fosfatidiletanolamina; AG: Ácido gordo; AEA: Anandamida; AF: Ácido fosfatídico; FosfoAEA: Fosfoanandamida; Liso-NAPE: Liso-N-araquidil-fosfatidiletanolamina; GlicerofosfoAEA: Glicerofosfoanandamida

**Figura 5:** Vias biossintéticas propostas para a anandamida.

*Adaptado de Hillard (2000) e Di Marzo & De Petrocellis (2012)*

A imagem acima é representativa das várias vias biossintéticas propostas para a anandamida.

Como se pode observar, a AEA é biossintetizada a partir de precursores dos fosfolípidos membranares, as N-araquidil-fosfatidiletanolaminas (NAPEs), sendo estas por seu turno oriundas da transferência de um grupo araquidil da fosfatidilcolina (PC) para a fosfatidiletanolamina (PE), por acção da enzima N-acil-transferase (NAT) (Hillard, 2000).

Di Marzo e De Petrocellis (2012) acrescentam, em relação a estes precursores, um outro mecanismo para a formação de NAPEs; neste, a NAE (N-acil-etanolamina) sofre hidrólise que resulta na produção de N-acil-liso-fosfatidiletanolamina (NA-liso-PE) e ácido gordo livre, pela intervenção de uma enzima liso-fosfolipase D (liso-PLD).

A NAPE gerada sofre posteriormente uma corte pela fosfolipase D (PLD), surgindo a anandamida e o ácido fosfatídico (Vemuri & Makriyannis, 2009; Di Marzo & De Petrocellis, 2012). O ácido fosfatídico resultante servirá de intermediário metabólico celular na síntese de outros fosfogliceróis.

Para além desta via de síntese, propõe-se uma outra via que consiste na hidrólise de NAPE por acção da fosfolipase C, resultando na fosfoanandamida que é então desfosforilada em anandamida (Piomelli, 2003; Vemuri & Makriyannis, 2009; Bisogno et al., 2005).

Di Marzo & De Petrocellis (2012) acrescentam a obtenção de AEA através da acção sequencial enzimática convertendo a NAPE a liso-NAPE primeiramente, seguindo-se glicero-fosfoanandamida e por último a anandamida.

#### 4.1.2. TRANSPORTE DE ANANDAMIDA

O transporte de EC é impulsionado por gradientes de concentração transmembranar de  $\text{Na}^+$ , o que indica que será mediado por mecanismo de difusão facilitada e/ou através de mecanismo de rápida redução de concentração intracelular; as células neuronais incorporam os endocanabinóides de forma semelhante aos ácidos gordos, eicosanóides e outros lípidos de importância biológica, e sendo compostos de natureza lipofílica, utilizam transportadores que não dependem de energia, difundindo-se através de membrana (Piomelli, 2003; Petrocellis & Di Marzo, 2012).

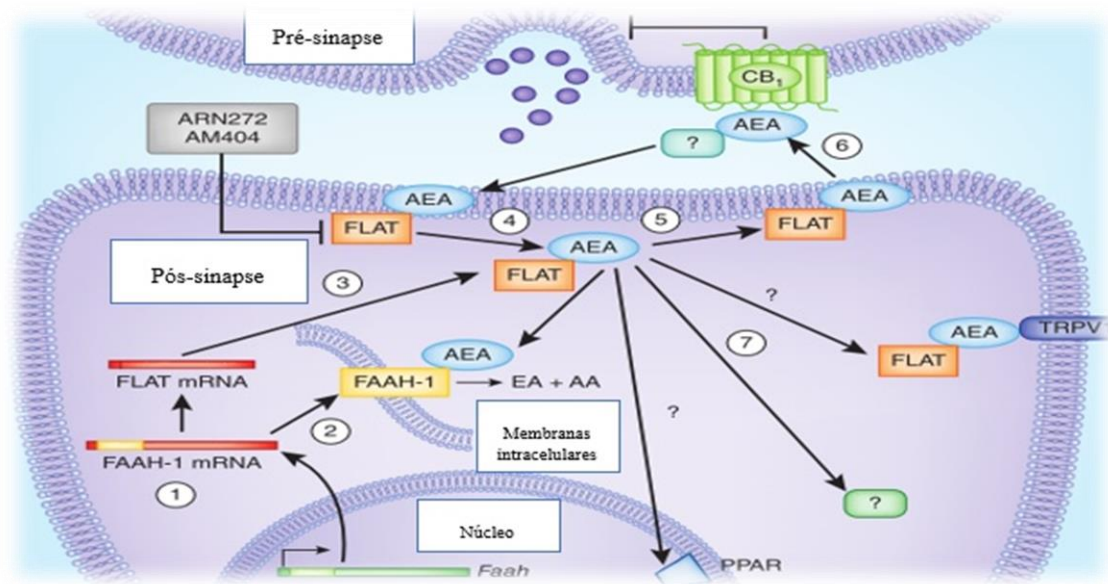
O transportador de membrana da anandamida ( $\text{AM}_T$ ) que ainda não está isolado apesar de estar farmacologicamente caracterizado permite uma captação que se caracteriza pela sua termo-dependência, saturabilidade e sensibilidade a inibidores sintéticos e que evidencia indirectamente a possibilidade de poder também mediar a captação de 2-araquidonil glicerol, 2-araquidonil glicerol éter (2-AGE), virodamina e NADA (Hillard, 2000; Goutopoulos & Makriyannis, 2002; Petrocellis & Di Marzo, 2012; Clapper et al., 2009). Parece também desempenhar um papel fundamental na terminação das acções da AEA através da recaptação desta do meio extracelular para a célula, seguido de hidrólise intracelular mediada pela FAAH (amida hidrolase de ácidos gordos) (Vemuri & Makriyannis, 2009).

Coexistem opiniões divergentes no seio da comunidade científica, havendo autores que negam a existência deste transportador membranar e que sugerem que a enzima responsável pela degradação, a FAAH, poderia ser responsável pela captação celular de anandamida, enquanto outros investigadores apresentam vários dados que corroboram a tese de transporte facilitado independente de FAAH (Petrocellis & Di Marzo, 2012).

Outros autores crêem num processo de captação de anandamida que ocorrerá via processo endocítico (Petrocellis & Di Marzo, 2012).

Ainda no respeitante ao tráfego intracelular (ver fig. 6), existe evidência de mediação através de uma proteína específica citoplasmática, uma variante da FAAH-1 designada *FAAH like anandamide transporter* (FLAT), sendo a mesma incapaz de se ligar ao 2-AG (Di Marzo & De Petrocellis, 2012). A actividade da FLAT, contrariamente ao que sucede com a FAAH, não é travada pelo inibidor competitivo URB597, o que atesta um papel específico da FLAT no transporte mas não na degradação dos EC. No núcleo dos neurónios pós-sinápticos, o gene da FAAH origina FAAH mRNA, que é precursor das proteínas FAAH-1 e FLAT. A FAAH-1 tem como alvo as membranas intracelulares

onde procede à clivagem de AEA em etanolamina e ácido araquidónico ao passo que a FLAT permite o transporte de AEA para o citoplasma, e sua libertação no espaço extracelular. Deste modo a AEA ligada a um transportador extracelular, ainda desconhecido, atravessa a fenda sináptica e activa os receptores pré-sinápticos CB<sub>1</sub>, mas também outros receptores (TRPV<sub>1</sub>, PPARs, etc.) no elemento pós-sináptico (Marsicano & Chaouloff, 2012).



ARN272 e AM404: Bloqueadores do transportador FLAT; FLAT: transportador de anandamida tipo FAAH; EA: Etanolamina; AA: Ácido araquidónico; PPAR: Receptor activado por proliferador de peroxissoma nuclear.

**Figura 6:** Supostas acções da FLAT nos neurónios.

*Adaptado de Marsicano & Chaouloff (2012)*

### **4.1.3. DEGRADAÇÃO DE ANANDAMIDA**

Cooperam dois mecanismos na terminação da sinalização endocanabinóide: um transporte para o interior da célula e sua degradação enzimática (Piomelli, 2003; Mechoulam et al., 1998). Os EC são degradados em função da sua natureza química, conhecendo-se como maior responsável pela degradação de AEA a enzima FAAH.

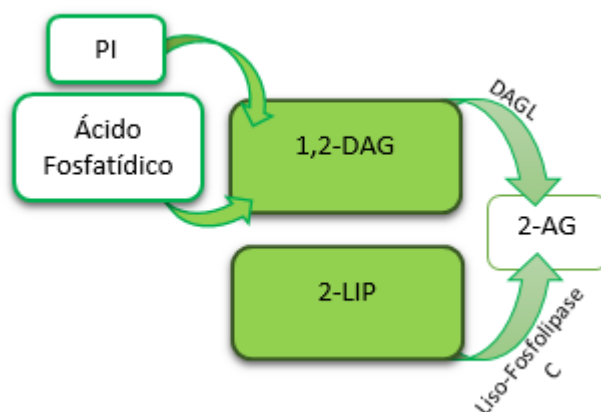
No cérebro de rato, esta enzima encontra-se expressa em elevadas concentrações nos corpos celulares e dendrites neuronais de células do hipocampo, tálamo, neocórtex e cerebelo; é colocalizada com os terminais axónicos que contêm CB1 o que é indicativo que esta participa na inactivação da AEA produzida a nível neuronal (Piomelli, 2003; Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

Esta enzima procede à clivagem de AEA em ácido araquidónico e etanolamina, mas reconhece também uma série de amidas e substratos éster, sem qualquer relação com os canabinóides (incluindo o factor de saciedade oleoiletanolamida, o mediador de inflamação palmitoiletanolamida, e o factor indutor de sono oleamida), com controlo modesto das suas concentrações, razão pela qual a sua designação passou de hidrolase de anandamida a hidrolase de ácidos gordos (Piomelli, 2003; Mechoulam et al., 1998; Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

## 4.2. 2-ARAQUIDONIL GLICEROL

### 4.2.1. BIOSSÍNTESE DE 2-ARAQUIDONIL GLICEROL

Este EC, analogamente aos restantes monoacilgliceróis, está presente em várias vias do metabolismo lipídico, quer como produto de uma via quer como precursor de outra, considerado essencial na origem das vias relacionadas com fosfoglicéridos, diglicéridos e triglicéridos ou como produto de degradação dos mesmos (Piomelli, 2003; Di Marzo e De Petrocellis, 2012). Assim, e ocupando um papel central no metabolismo lipídico, foram estabelecidas duas vias possíveis de síntese representadas na fig 7.



PI: Fosfatidilinositol; 2-LIP: 2-Araquidonil Lisofofolípido; 1,2-DAG: 1,2-Diacilglicerol;

DAGL: Diacilglicerol lípase; 2-Araquidonil-glicerol

**Figura 7:** Processo de formação do 2-Araquidonilglicerol.

*Adaptado de Piomelli (2003)*

Na figura acima, pode ver-se a formação do composto 1,2-diacilglicerol (1,2- DAG) a partir do fosfatidil inositol (PI) ou do ácido fosfatídico. O 1,2-DAG é transformado em 2-AG por acção da DAG lipase (DAGL) (Di Marzo & De Petrocellis, 2012). Relativamente à enzima DAGL, caracterizaram-se duas isoenzimas, a DAGL- $\alpha$  e a DAGL- $\beta$ , revelando os estudos uma maior relevância para a DAG- $\alpha$  na manutenção e funcionalidade de 2-AG pela regulação da intensidade sináptica (Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

A via alternativa de síntese tem início na produção de 2-araquidonil-lisofofolípido (2 LIP), metabolizado depois a 2-AG pela liso-fosfolipase C (Piomelli, 2003; Vemuri & Makriyannis, 2009; Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

#### 4.2.2. DEGRADAÇÃO DO 2-ARAQUIDONIL GLICEROL

Os níveis deste EC, contrariamente aos de AEA não são aumentados em ratinhos FAAH *knock-out* corroborando a tese da existência de outras enzimas de catálise na inactivação de 2-AG.

As lípases de monoacilglicerol (MAGL) presentes no citosol e na membrana são as principais responsáveis pela hidrólise enzimática do 2-AG, reconhecendo como substratos não só este como outros monoacilgliceróis insaturados que competem por vezes na inactivação do EC. Esta enzima revelou a sua presença maioritária em locais de expressão dos receptores CB1 (hipocampo, córtex, tálamo e cerebelo), sendo que a nível hipocampal tem localização pré-sináptica, o que fundamenta a teoria da acção do 2-AG como mensageiro retrógrado cujas enzimas responsáveis pela síntese (DAGLs) são pós-sinápticas (Bisogno et al., 2005; Vemuri & Makriyannis, 2009).

A etanolamina, ácido araquidónico e glicerol, produtos de hidrólise da AEA e 2-AG são reutilizados em fosfolípidos de membrana de modo a serem utilizados de novo, pelo menos em parte, nas vias biossintéticas dos dois EC (Di Marzo e & De Petrocellis, 2012; Bisogno et al., 2005).

O 2-AG, contrariamente ao que sucede com a AEA, pode sofrer re-esterificação em fosfolípidos numa fase precedente à hidrólise, através de mecanismos que envolvem a fosforilação ou acilação dos seus grupos hidroxilo. Esta via metabólica é de particular interesse no caso da inactivação de 2-AGE (2-Araquidonil glicerol éter), cuja ligação éter não pode ser hidrolisada. Pela presença do componente araquidonato, é possível também equacionar que os EC sejam susceptíveis de mecanismos de oxidação catalizados por lipooxigenases, ciclooxigenases e oxidases do citocromo P450. Para além destes mecanismos alternativos de inactivação, estabeleceu-se também que a AEA e 2-AG podem ser convertidos enzimaticamente nas correspondentes prostaglandinas etanolaminas – as prostamidas- e prostaglandinas gliceril ésteres respectivamente, pela acção da ciclooxigenase-2 e prostaglandinas sintetases (Bisogno et al., 2005; Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

### 4.3. OUTROS ENDOCANABINÓIDES E LIGANDOS ANÁLOGOS

Existem, para além da AEA e 2-AG, outros metabolitos lipídicos (ver fig. 4), quimicamente semelhantes, que actuam supostamente, também como canabinóides (Di Marzo & De Petrocellis, 2012). A maior parte dos investigadores neste campo considera-os endocanabinóides *minor*.

Poderá pôr-se a hipótese de que estes derivados de ácidos gordos libertados durante o processo de produção de AEA e 2-AG, possam potenciar as acções dos dois EC por minimizarem a sua inactivação e assim aumentar concomitantemente a disponibilidade para ligação e activação dos receptores; por exemplo, descobriu-se que a oleamida potencia fortemente a eficácia de ligação da AEA aos receptores CB1 na inibição da proliferação celular linfocítica e proliferação celular no cancro da mama; o 2-palmitoilglicerol e 2-linoleoilglicerol facilitam de igual modo a ligação de 2-AG aos receptores CB1 e CB2 (Di Marzo e & De Petrocellis, 2012).

Ainda que não tenham provado possuir significativa afinidade intrínseca para os CBs, produzem efeitos relacionados com a fisiologia dos EC sendo muitos deles substratos para as enzimas de metabolização de EC e servir de transportadores para NT centrais através de barreira hemato-encefálica (Vemuri & Makriyannis, 2009).

Na literatura, este efeito de potenciação que facilita a acção dos EC *major* designa-se por efeito ‘*entourage*’ (Martin, Mechoulam & Di Marzo, 1999; Bisogno et al., 2005).

O 2-araquidonil-glicerol-éter (2-AGE) consiste na ligação éter análoga do 2-AG, activando receptores CB1. A sua via de formação não foi caracterizada todavia, e tem sido posta em causa a sua ocorrência no cérebro saudável (Piomelli, 2003).

Demonstrou induzir rápida elevação transitória de cálcio intracelular livre, através de mecanismo dependente de receptor CB1 e, recentemente, demonstrou exercer acção como agonista total de CB2 com eficácia equivalente ao 2-AG (Vemuri & Makriyannis, 2009).

A virodamina, éster do ácido araquidónico e etanolamina, supõe-se actuar como antagonista de CB1, estando documentada a sua presença a nível cerebral referindo-se também o facto de ser uma molécula quimicamente instável e rapidamente convertida a anandamida em meio aquoso; o seu mecanismo de síntese é desconhecido e a sua desactivação poderá partilhar as vias de captação e hidrólise intracelular da AEA (Piomelli, 2003). Demonstrou estar presente em tecidos periféricos em concentrações muito superiores às de AEA mas inferiores no cérebro. *In vivo* actua como agonista total



de CB2 e como agonista parcial/antagonista de CB1 quando testado para a hipotermia em ratos. Sabe-se também actuar como inibidor fraco da captação de AEA (Vemuri & Makriyannis, 2009).

O agonista endógeno N-araquidonil-dopamina (NADA), exhibe *in vitro* afinidade para os receptores canabinóides (Piomelli, 2003). Possuem também capacidade de interacção com receptores não canabinóides, nomeadamente com os TRPV<sub>1</sub> (Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

A palmitoiletanolamina (PEA), potente lípido analgésico, originalmente detectado em maior concentração no cérebro, fígado e tecido muscular de cobaias, comporta-se como agonista e liga-se a receptores canabinóides CB2 periféricos nos mastócitos, células derivadas da medula óssea, com capacidade de desempenhar um importante papel na inflamação tecidular e interacção neuroimune. O facto de despoletar efeitos não psicoactivos dos canabinóides conduziu à hipótese de que a PEA actua através de receptores acoplados a proteína G, farmacologicamente distintos dos receptores CB1 e CB2 (Vemuri & Makriyannis, 2009).

A oleamida (ODA, cis-9-octadecenamida) é conhecida por se tratar do factor indutor de sono tendo sido pela 1.<sup>a</sup> vez identificado em fluido cerebrospinal em estado de vigília prolongado. ODA e AEA produzem efeitos semelhantes em ratos; é também substrato da FAAH partilhando outras características com a AEA (Vemuri & Makriyannis, 2009).

#### 4.4. MECANISMO DE ACÇÃO DOS ENDOCANABINÓIDES: NEUROMODULAÇÃO E PLASTICIDADE SINÁPTICA

Como se pode ver na tabela abaixo, a AEA está presente em concentrações elevadas em certas regiões do SNC, por isso a sua função foi estudada particularmente nos neurónios do hipocampo e cerebelo.

**Tabela 2:** Níveis de anandamida detectados em diferentes regiões na periferia e no SNC.

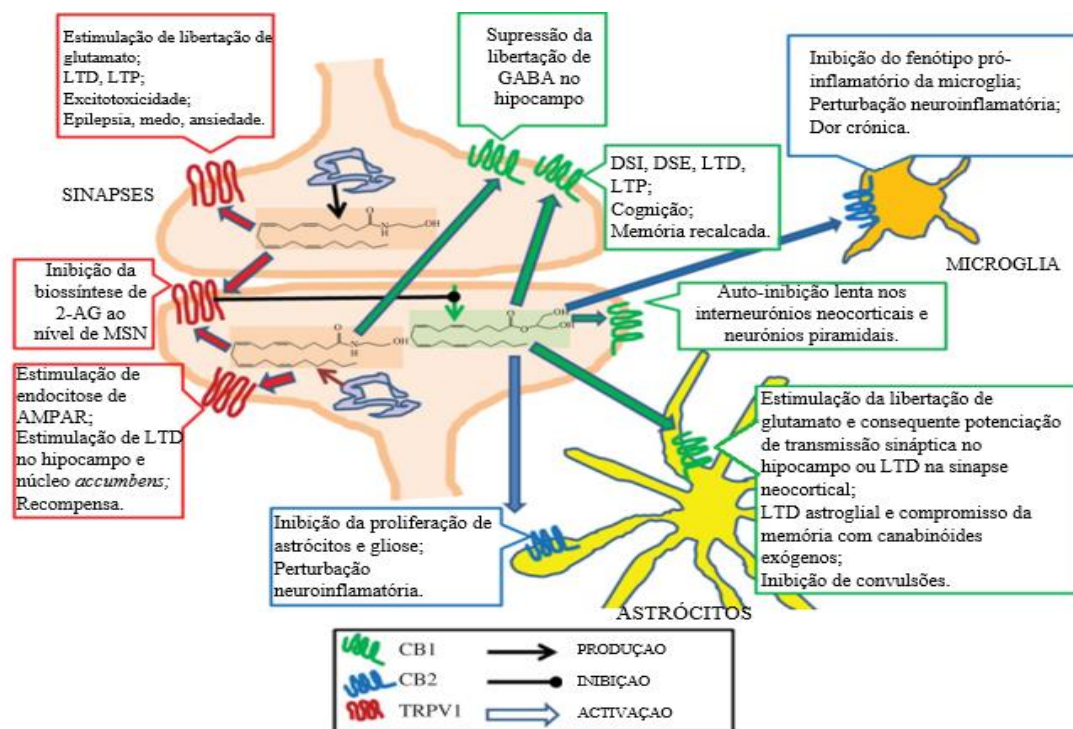
*Adaptado de Goutopoulos & Makriyannis (2002)*

Anandamida: SNC	Anandamida: tecidos periféricos
<i>Hipocampo: 100 pmol/g</i>	Baço ~ 10 pmol/g
<i>Tálamo: 75 pmol/g</i>	Coração ~ 10 pmol/g
<i>Cerebelo: 60 pmol/g</i>	Testículos > 75 pmol/g
<i>Estriado: 55 pmol/g</i>	Útero > 75 pmol/g

O mecanismo de acção dos EC passa fundamentalmente pela sua particular neurotransmissão retrógrada, afectando sobretudo os neurónios glutamatérgicos e gabaérgicos (Marsicano & Chaouloff, 2012). Segundo Kano (2014) os receptores CB1, estão em maior quantidade em sinapses inibitórias (gabaérgicas) que em sinapses excitatórias (glutamatérgicas). Tratando-se de mediadores retrógrados, estes mensageiros detêm a capacidade de modificar a plasticidade sináptica a curto e longo termo. Com uma duração maior de acção podem despoletar LTD (depressão a longo prazo) e LTP (potenciação a longo prazo), querendo isto dizer que diminuem a acção sináptica ou potenciam a mesma, respectivamente. Por outro lado, com perfil transitório, podem desencadear também no decurso da despolarização, a supressão da inibição sináptica ou a supressão da excitação, fenómenos conhecidos por DSI (inibição suprimida por despolarização) e DSE (excitação suprimida por despolarização) (Kano, 2014). Existe alguma evidência na literatura que preconiza que na depressão sináptica a curto prazo, o interveniente maioritário é o 2-AG, pois através da inibição enzimática da MAGL, verificou-se uma actividade mais prolongada de DSI e DSE, o que não se observou na ausência de FAAH. Por outro lado, estes fenómenos estão ausentes no hipocampo, estriado e cerebelo de ratos *knock-out* em DAGL $\alpha$  (Kano, 2014).

Os processos mencionados encontram-se figurados na fig 8, bem como a acção endocanabinóide na libertação gabaérgica e glutamatérgica, e consequente implicação

em vários processos: comportamento motor, controlo do humor, do sistema nociceptivo, do sistema de recompensa, aprendizagem e memória, excitabilidade celular (epilepsia), ansiedade. No entanto, é de ressaltar que, ainda que os EC estejam envolvidos em várias formas de modulação a curto e longo prazo, é ainda desconhecido o modo como cada uma destas afecta funções neuronais particulares (Kano, 2014).



LTD: Inibição de longa duração; LTP: Potenciação de longa duração; DSI: Inibição suprimida por despolarização DSE: Excitação suprimida por despolarização; AMPAR: receptor do ácido amino propanóico; MSN: *Medium spiny neurons* (cerebelo)

Figura 8: Funções da Anandamida e 2-AG em diferentes receptores cerebrais.

Adaptado de Di Marzo & De Petrocellis (2012)

A plasticidade sináptica é envolvida em respostas adaptativas pró-homeostáticas, respostas a excitotoxicidade e dano neuronal, à neuroinflamação, assim como mecanismos de modulação da força sináptica nos processos cognitivos, motivacionais e afectivos e suas alterações patológicas (Di Marzo, 2009). A AEA como referido precedentemente foi proposta como participando neste processo por ação sobre o elemento pré-sináptico, mas actua também no elemento pós-sináptico, por ligação ao receptor TRPV<sub>1</sub> (estando ambos presentes nos mesmos órgãos, tecidos e células), função que claramente, o 2-AG estará menos apto a desempenhar dada a sua baixa

potência e eficácia para este receptor (Di Marzo & De Petrocellis, 2012; Starowicz & Przewlocka, 2012).

No que concerne a esta particularidade da AEA em ligar-se a dois receptores distintos, alguns autores defendem que a LTD provocada por este EC em certas regiões do hipocampo e do núcleo acumbens é mediada via TRPV<sub>1</sub>. Ensaio recorrendo ao inibidor selectivo da FAAH, URB597, com consequente elevação de AEA, revelaram que ocorreu activação de canais de Ca<sup>2+</sup> dependente das proteínas calcineurina e dinamina (propulsoras de processo endocítico). O facto de que os canais TRPV<sub>1</sub> estão localizados em compartimentos da membrana plasmática e do citoplasma de neurónios centrais, apoia também que a mobilização do cálcio se relaciona com esta forma de inibição da sinapse.

No entanto, acompanhando a elevação da concentração de AEA verifica-se que esta activa também os receptores canabinóides do tipo 1. Em comum, a activação tanto do canal como do receptor requer a activação de receptores pós-sinápticos metabotrópicos de glutamato (mGluR5), o que leva a equacionar que a AEA seja produzida em consequência da activação destes receptores através de glutamato excedente assim como através de despolarização pós-sináptica que mobilizando cálcio actua na activação da biossíntese de AEA dependente deste ião (Di Marzo, 2010).

É aceite na literatura que TRPV<sub>1</sub> e CB1 podem desempenhar tanto funções opostas como sinérgicas, sob certas condições patológicas e fisiológicas (Starowicz & Przewlocka, 2012).

Em conclusão, a marijuana poderá alterar os efeitos mediados pelos endocanabinóides nas sinapses e alterar a plasticidade sináptica conduzindo a alteração da memória a curto-termo e da capacidade de aprendizagem do consumidor.

## 5. APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DOS ENDOCANABINÓIDES

Na continuidade das pesquisas acerca deste tema e compreensão de que o sistema endocanabinóide se encontra desequilibrado em certas condições fisiopatológicas e alterações comportamentais, muitos estudos têm sido conduzidos visando a descoberta e correcto entendimento de propriedades farmacológicas dos endocanabinóides e do seu valor terapêutico (Melamede, 2009).

Apesar de se tratarem de produtos considerados naturais e familiares para o organismo, desconhecia-se, e actualmente, não é ainda totalmente compreendido o efeito toxicológico da administração de canabinóides ou derivados em humanos, razão pela qual a regulamentação não foi permissiva na sua utilização, não tendo ocorrido até ao ano de 2000 ensaios clínicos humanos com estas substâncias (Mechoulam & Hanus, 2000).

As questões de ordem regulamentar têm sido (à parte de muitas outras), o que de algum modo levou a que as pesquisas no potencial terapêutico dos endocanabinóides tenham um carácter vagaroso, começando unicamente a revelar alguns resultados no decurso das últimas duas décadas. O THC integra a tabela de substâncias ilícitas na lista I (EUA), o que significa que são consideradas como não possuindo qualquer valor terapêutico. A cocaína, heroína e derivados destas, por serem extensamente utilizadas na medicina e com reconhecido valor terapêutico integram a lista II, e assim estão sujeitas a um controlo de certa forma mais permissivo para o seu uso em investigação. A inerente política burocrática e financeira na autorização de utilização de canabinóides para estudo e investigação científica atrasaram o início das pesquisas em anos e limitaram o campo de acção dos investigadores (Bostwick, 2014; Nutt et al., 2013; Giuffrida & McMahon, 2010).

À parte do referido, os estudos que visam o *design* de novos fármacos nesta área são também dificultados pela falta de modelos animais apropriados e a complexidade do cérebro humano limita a extrapolação das observações para o ser humano (Baker, Pryce, Giovannoni & Thompson, 2003).

Ainda assim, pode dizer-se que alguns avanços significativos foram concretizados no respeitante à terapêutica de base canabinóide, a partir do conhecimento de que os EC são passíveis de modificar várias funções neurotransmissoras responsáveis por certas perturbações, como se pode verificar na tabela seguinte:

**Tabela 3:** Funções neurotransmissoras sob controlo canabinoide.

*Adaptado de Baker et al., (2003)*

Neurotransmissor	Perturbação associada
<u>Aminoácidos excitatórios</u>	
<i>Glutamato</i>	Epilepsia; morte de células nervosas no AVC
<u>Aminoácidos inibitórios</u>	
<i>GABA</i>	Perturbação motora da espinhal medula; epilepsia; ansiedade
<i>Glicina</i>	Síndrome de medo
<u>Monoaminas</u>	
<i>Noradrenalina</i>	Homeostase autonómica; hormonas; depressão
<i>Serotonina</i>	Depressão; ansiedade; enxaquecas
<i>Dopamina</i>	Doença de Parkinson; esquizofrenia; emese; hormonas pituitárias; dependência de drogas
<i>Acetilcolina</i>	Perturbações neuromusculares; homeostase autonómica; demência; parkinsonismo; epilepsia; ciclos de sono-vigília
<i>Neuropéptidos</i>	Dor; movimento; desenvolvimento neuronal; ansiedade.

Como se pode constatar, o SEC controla diversos mediadores químicos e tem influência em diversas patologias. Atendendo à variedade de funções fisiológicas sob influência, directa ou indirecta de endocanabinóides, preconiza-se que o sistema que estes integram possa servir de alvo às terapêuticas em variadas patologias, devendo por isso compreender-se a actuação de todos os membros integrantes do sistema endocanabinoide de forma a alcançar o *design* de novas moléculas.

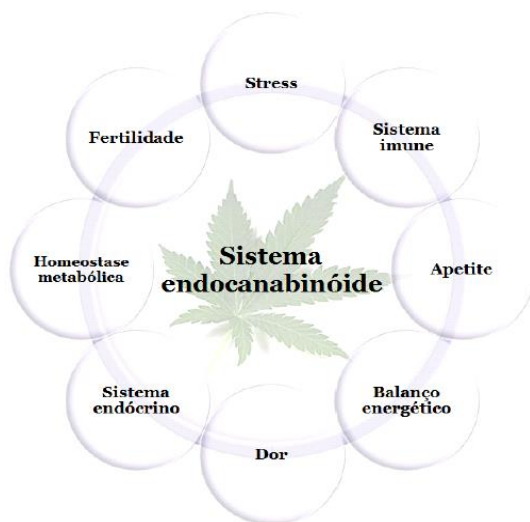
Têm sido desenvolvidas várias ferramentas farmacológicas objectivando este fim, nomeadamente inibidores da captação de EC (AM404, VDM11, OMDM-1 e 2), inibidores da FAAH (URB-597, OL-135, BMS-1) e inibidores da MAGL (URB 602 e OMDM169), agonistas CB1/CB2 (WIN-55,512-2 e HU-210), análogos da AEA (metanandamida e metfluoroanandamida), agonistas selectivos CB1 (araquidonil cloroetanolamida) e agonistas selectivos CB2 (HU-308, AM1241), inibidores selectivos da biossíntese de 2-AG (O-3640); antagonistas e agonistas inversos de CB1

(Rimonabant, Surinabant, Taranabant, AM251), antagonistas e agonistas inversos CB2 (SR144528 e AM630) e moduladores alostéricos dos CBs (Org 27596 e Org 29647) (Di Marzo, 2009).

Algumas destas moléculas permitiram a avaliação do efeito dos canabinóides e suas dosagens em diferentes condições, culminando alguns dos estudos efectuados no desenvolvimento de fármacos aplicados actualmente na clínica, com os agonistas dos receptores canabinóides (Nabilona, Dronabinol e Nabiximol) e do antagonista do receptor CB1 (Rimonabant).

Com a implementação de terapêuticas de base canabinóide surgiram analogamente algumas preocupações inerentes aos efeitos indesejáveis que os canabinóides possam despoletar, relevados pelo facto de o sistema endocanabinóide não ser totalmente conhecido, devendo ser atribuída relevância a estes aspectos, almejando-se a busca pelo equilíbrio entre actividade terapêutica e efeitos adversos (Pacher & Kunos, 2013).

Neste sentido apresentam-se no capítulo seguinte os sistemas (resumidos na fig 9) onde o SEC demonstrou ter um papel de relevo e actualmente alvo da terapêutica.



**Figura 9:** Processos fisiológicos em que está envolvido o SEC.

*Retirado de Fonseca et al. (2013)*

### 5.1. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA EMESE

A náusea que regra geral precede o vômito constitui a experiência desagradável associada a sensação de desconforto, representando variadas vezes o efeito indesejado e secundário de certo tipo de medicamentos. São típicos no quadro clínico do paciente submetido a quimioterapia e, muitas vezes relacionados com as sensações experimentadas no passado (dado que estão intrincados a circuitos envolvidos nos processos de aprendizagem e memória, são reflectidos como antecipação à intervenção quimioterapêutica - náuseas antecipatórias) (Sharkey et al., 2014).

De aplicação ancestral também nesta sintomatologia, a cannabis surge na atenuação do desconforto e melhoria da qualidade de vida, havendo ensaios clínicos que demonstram a eficácia da terapêutica de base canabinóide, que chega por vezes a ser superior a alguns tratamentos considerados de primeira linha, já que o SEC quando estimulado modula a emese a nível central e periférico (Engels et al., 2007; Bowles, O'Bryant, Camidge & Jimeno, 2012; Sharkey et al., 2014).

A aplicação canabinóide nesta sintomatologia é representada pelo dronabinol (Marinol®) e pela nabilona (Cesamet®). O dronabinol consiste na molécula agonista dos receptores canabinóides, preparada sinteticamente a partir do isómero *trans* da molécula  $\Delta^9$ -THC (o isómero mais estudado da *Canabis sativa*), aprovada pela FDA em 1992, no tratamento das náuseas e vômitos consequentes de quimioterapia e distribuída pela Solvay Pharmaceuticals (Vemuri & Makriyannis, 2008; Howard et al., 2013; McDonough, McKenna, McCreary & Downer, 2014; Rahn & Hohmann, 2009). É uma substância controlada e pertencente à lista III das substâncias de abuso consideradas ilegais e com controlo especial, segundo a Convenção de Substâncias Psicotrópicas de 1971 (Howard et al., 2013; Proença da Cunha & Roque, 2009).

A nabilona (Cesamet®), substância controlada constante na tabela II, de acordo o estipulado na já referida Convenção, pertence também às substâncias controladas, é um análogo sintético do  $\Delta^9$ -THC e tal como sucede com o dronabinol (Marinol®), a sua indicação clínica é direccionada ao seu potencial anti-emético quimio-associado (Howard, Twycross, Shuster, Mihalyo & Wilcock, 2013; Proença da Cunha & Roque, 2009). É patenteada pela Valeant Pharmaceuticals e encontra-se licenciada desde 1985 pela FDA, apesar de a agência regulamentar britânica ter aprovado o uso desta substância como anti-emético sem restrições, desde os anos 1970, actualmente só é prescrita quando não há resposta aos anti-eméticos convencionais (Sharkey et al., 2014;



Vemuri & Makriyannis, 2008; Porter & Felder, 2001; McDonough, McKenna, McCreary & Downer, 2014)

Por norma, as náuseas e vômitos são despoletados a partir da libertação de serotonina (5-HT) das células enterocromafines distribuídas pelo epitélio do tracto gastrointestinal, e este NT activa receptores 5HT<sub>3</sub> e/ou 5HT<sub>4</sub> nos nervos aferentes vagais e nos gânglios nodosos. As células enterocromafines expressam receptores CB1 e, assim, propôs-se que este receptor poderia constituir um alvo selectivo na redução da emese, reduzindo a libertação de serotonina (Sharkey et al., 2014).

Um estudo piloto realizado em 1988 em 56 pacientes cujo controlo de náuseas e vômitos com terapêutica convencional anti-emética era inadequado, revelou uma eficácia de 78% com a inalação de cannabis e um outro, em 2001 que avaliou cerca de 1300 indivíduos, demonstrou uma eficácia superior para os canabinóides relativamente aos anti-eméticos convencionais (Bowles et al., 2012).

A evidência clínica revela ainda que o  $\Delta^8$ -THC suprime as náuseas antecipatórias em crianças: de modo análogo ao que sucede com o  $\Delta^9$ -THC, a resposta à AEA só é observável no animal adulto, o que se comprovou pela não-deteção da mesma em ratinhos jovens, tendo esta diferença entre as duas moléculas culminado na realização de um ensaio clínico concretizado por Mechoulam e colaboradores (1998), utilizando  $\Delta^8$ -THC em crianças sofrendo de emese derivada de quimioterapia. Constataram que os efeitos secundários típicos de THC foram mínimos ou ausentes tendo o efeito anti-emético por seu turno persistido, não sendo observados efeitos psicotrópicos mesmo para doses elevadas. Os autores postularam assim que no futuro poderiam ser desenvolvidos fármacos de base canabinóide a nível pediátrico, sem prejuízo de efeitos psicotrópicos (Mechoulam et al., 1998; Sharkey et al., 2014).

Em estudos comparativos entre a nabilona e antagonistas D<sub>2</sub> (por exemplo a metoclopramida), a primeira demonstrou resultado na diminuição dos episódios eméticos em náuseas moderadas (Sharkey et al., 2014). Na generalidade dos estudos porém, os canabinóides não revelaram uma eficácia superior aos antagonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub> e D<sub>2</sub> no potencial emetogénico elevado ou severo (Sharkey et al., 2014; Bowles et al., 2012). Howard et al., (2013) referem que ainda que possuindo eficácia anti-emetogénica moderada, os antagonistas do receptor 5HT<sub>3</sub>, continuam a ser mais eficazes e melhor tolerados que o dronabinol.

Sharkey et al., (2014) referem que, não obstante a relação benéfica da marijuana neste quadro, existe no entanto um efeito paradoxal no consumo desta substância cuja

exposição crónica a elevadas doses despoleta nalguns indivíduos uma síndrome emética cíclica. Para já, apesar de utilizados em perfis refractários, a Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO) e a Sociedade Europeia de Oncologia Médica (ESMO), não recomendam os canabinóides como terapêutica de primeira linha devido a um conhecimento ainda limitado das vias de regulação das náuseas e vômitos e, além disso, sendo estes análogos administrados em doentes oncológicos e portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida, existe alguma preocupação relativamente à utilização de canabinóides nestes doentes devido à imunossupressão induzida pelo THC (Baker, Pryce, Jackson, Bolton & Giovannoni, 2012; Bowles et al., 2012).

## **5.2. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA ANOREXIA E CAQUÉXIA**

Os efeitos da marijuana na estimulação do apetite justificaram a implementação, em 1992 do THC, sob a forma do dronabinol (Marinol®) na caquexia em doentes oncológicos e na anorexia com consequente perda de peso grave em indivíduos infectados pelo vírus do VIH (Berry & Mechoulam, 2002; Bowles et al., 2012; Howard et al., 2013; McDonough, McKenna, McCreary & Downer, 2014).

Em pacientes seropositivos, a administração de 2.5mg duas vezes/dia durante 1 ano revelou um aumento substancial no aumento de apetite e, num outro estudo, observou-se um ganho de peso em cerca de 2 Kg em pacientes tratados comparando com o grupo placebo. Este análogo do THC demonstrou ser também bem-sucedido num estudo com relação ao apetite em doentes de Alzheimer e, à parte da ocasional euforia e sonolência, verificou-se um aumento no peso corporal (Berry & Mechoulam, 2002).

No entanto, há alguns dados dúbios na literatura. Bowles et al., (2012) referem que a eficácia do dronabinol (Marinol®) em doentes oncológicos comparativamente a outros medicamentos é limitada uma vez que num ensaio em doentes oncológicos anorécticos submetidos a administração de 2.5mg/b.i.d. em monoterapia ou em terapia combinada com dose elevada (800 mg/dia) de megestrol, o análogo canabinóide revelou-se menos eficaz no ganho de peso que o megestrol em monoterapia.

### 5.3. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA DOR CRÓNICA E ONCOLÓGICA

Datam de 2737 antes de Cristo as referências ao poder analgésico e de diminuição da sensibilidade à dor da marijuana (Starowicz & Di Marzo, 2013). Os EC, através de actuação nas vias ascendentes dos nervos sensoriais, e nas vias descendentes inibitórias, que permitem o controlo dos sinais nociceptivos provenientes do tronco cerebral e espinhal medula, inibem a dor a nível periférico, espinhal e supra espinhal (Starowicz & Di Marzo, 2013).

A utilização dos canabinóides é, na generalidade, aprovada na dor severa que não responde a opióides (crónica, neuropática e oncológica) (Bonn-Miller, Babson & Vandrey, 2014; Howard et al., 2013).

Ainda que o recurso ao cannabis, quer na forma inalada quer sob a forma medicamentosa esteja aprovado para algumas formas de dor, existe muita divergência devido a dados ambíguos ou insuficientes para que se aceite o uso indiscriminado de canabinóides como analgésicos (Bowles et al., 2012; Yuan & Ho, 2014). Numa revisão sistemática acerca do dronabinol e nabilona, estes revelaram-se tão eficazes como 50-120 mg de codeína. Num outro estudo, a nabilona revelou menor eficácia que doses modestas de di-hidrocodeína na dor neuropática, ainda que revelando menos efeitos indesejáveis. É aceite que os canabinóides são mais eficazes que o placebo no tratamento da dor neuropática, mas, no entanto, é incerta a sua eficácia comparativamente com fármacos convencionais para a dor; é crescente o interesse na combinação de canabinóides com opióides na dor crónica, já que os primeiros parecem potenciar a acção dos derivados do ópio (Bowles et al., 2012).

Os mediadores químicos endógenos são química e funcionalmente distintos dos canabinóides exógenos, por isso, surgem alguns receios relativos aos efeitos psicotrópicos que induzem. Desta forma, pressupõe-se que seriam evidenciados menos efeitos secundários se ao invés do uso de cannabis e análogos, se mediassem os efeitos do SEC através da inibição das suas enzimas de degradação. No entanto, elevando indirectamente os níveis de AEA, esta estaria capacitada a ligar-se não só a CB1, mas também aos canais TRPV<sub>1</sub> e estes últimos, quando activados, apresentam alguns efeitos pró-nociceptivos (Bostwick, 2014; Starowicz & Di Marzo, 2013). Há uma acção contrária na activação selectiva dos receptores CB1 e canais TRPV<sub>1</sub>, podendo ocorrer atenuação ou agravamento da nocicepção. De facto, a analgesia e anti-nocicepção

ocorrem para baixos níveis de AEA via CB1 e via TRPV<sub>1</sub> para níveis mais elevados (Di Marzo & De Petrocellis, 2012).

À luz destes factos, Starowicz & Di Marzo (2013) sugerem uma estratégia farmacológica diferente, com base no direccionamento farmacológico aos EC e não aos receptores: o desenvolvimento de moduladores multi-alvo (Starowicz & Di Marzo, 2013; Bostwick, 2013). Os autores acreditam ser possível desenvolver novos fármacos analgésicos e anti-inflamatórios com potencialidade na dor crónica recorrendo à modulação de uma molécula única; assim potenciar-se-iam os níveis de substratos endógenos por ação na FAAH e inactivar-se-iam os receptores TRPV<sub>1</sub> (Starowicz & Di Marzo, 2013). Actualmente, entre as terapêuticas de base canabinóide comercializadas, apenas o Sativex<sup>®</sup> se baseia numa estratégia multi-alvo, devido ao rácio que apresenta de CBD/THC (Bostwick, 2014).

#### 5.4. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA ESPASTICIDADE MUSCULAR

A esclerose múltipla consiste numa doença crónica neurodegenerativa desmielinizante e imuno-mediada do SNC com alterações sensoriais nomeadamente sintomas de dor e alterações motoras traduzidas por espasticidade muscular. Os receptores canabinóides estão estrategicamente localizados no SNC, mas também nas vias nervosas aferentes e eferentes do sistema nervoso periférico e ao nível da junção neuromuscular (Baker et al., 2012).

Os níveis de EC encontram-se desregulados em zonas tecidulares na esclerose múltipla. Além disso, em roedores, através de agonistas dos receptores canabinóides observou-se uma atenuação da espasticidade e, por outro lado, recorrendo a antagonistas de CB<sub>1</sub> verificou-se que este se agrava temporariamente (Baker et al., 2003; Baker et al., 2012). O nabiximol (Sativex®), tal como a nabilona e dronabinol consiste num agonista dos receptores canabinóides e combina na mesma formulação, em *spray* oral, um rácio equilibrado de CBD/ $\Delta^9$ -THC (o que faz dele substância controlada de acordo com a Convenção de 1971) (GW Pharmaceuticals, 2014; Di Marzo, 2006; Vemuri & Makriyannis, 2008; Howard et al., 2013; Nutt et al., 2013).

Em 2005 foi implementado o nabiximol no Canadá no tratamento da espasticidade de doentes com esclerose múltipla e em 2007, no mesmo estado, foi instituído na terapêutica da dor neuropática e dor oncológica (Maione, Cost & Di Marzo, 2013).

Actualmente, através dos Laboratórios GW Pharmaceuticals, o Sativex® é comercializado na Austrália e Nova Zelândia, Ásia (excepto Japão, China e Hong Kong), Médio Oriente (excepto Israel e Palestina) e África. Em Espanha, a Farmacêutica Almirall S.A. detém a autorização de introdução no mercado deste fármaco, onde já é comercializado, bem como sobre outros mercados europeus, nomeadamente em França (já comercializado), Alemanha, Itália, Reino Unido, Portugal (ainda não comercializado) e na América Latina (GW Pharmaceuticals, 2014; Di Marzo, 2006; Vemuri & Makriyannis, 2008; Howard et al., 2013; Nutt et al., 2013; Bowles et al., 2012; Serpell, Notcutt & Collin, 2013).

O Sativex® foi avaliado em vários ensaios clínicos na esclerose múltipla, particularmente na espasticidade, hiperactividade da bexiga e dor neuropática com resultados promissores: um destes estudos de caso-controlo com uma amostra de 60 indivíduos resultou em redução na intensidade da dor (de 2.7 pontos versus 1.4 pontos no grupo placebo; numa outra avaliação, a necessidade posológica do fármaco foi

menor mas ainda assim com diminuição na pontuação subjectiva da dor com continuidade do tratamento. Satisfatoriamente, durante o tratamento não se verificou associação com aumento na utilização de outros analgésicos sendo que muitos pacientes reduziram ou cessaram mesmo o uso de outros fármacos durante a utilização de Sativex<sup>®</sup> (Maker-Clark & Patel, 2013).

A Sociedade Nacional de Esclerose Múltipla reforça a necessidade de que sejam revisados os dados acerca do que é conhecido do uso de canabis neste quadro clínico, incumbindo recomendações específicas relativamente às pesquisas ainda por efectivar, que deverão responder a certas dúvidas relativas ao potencial de segurança e eficácia da marijuana e seus derivados neste tratamento (Maker-Clark & Patel, 2013).

Apesar da controvérsia literária, na generalidade, a maioria dos ensaios clínicos relevam uma ainda que modesta, melhoria na esclerose múltipla, considerado-se as terapêuticas de base canabinóide potenciais úteis na espasticidade nesta patologia (Baker et al., 2012).

### 5.5. O USO DE ANTAGONISTA NA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA

O instinto para o consumo alimentar é um dos mais elementares e primários parâmetros da sobrevivência, e contudo um dos mais complexos.

A utilização da *Cannabis sativa* é conhecida como estimulador do apetite desde 300 d.C. (Godoy-Matos, Guedes, Souza & Valério, 2006). Em 2002, Berry & Mechoulam descrevem que crias de rato sujeitas a um bloqueio do SEC não se desenvolviam, acabando por morrer uma vez que não se alimentavam do leite materno, e afirmaram existir uma acção dos EC no processo de amamentação.

Os endocanabinóides controlam o sistema motivador para a procura da comida por acção sobre o sistema da recompensa e, por outro lado, actuam na regulação da homeostasia energética (Vemuri, Janero & Makriyannis, 2008; Kim, Li & Watkins, 2011). O hipotálamo é o principal regulador da homeostasia energética implicado no controlo ingestão/gasto energético e é influenciado pelos EC (Vemuri et al., 2008; Kim et al., 2011).

A síntese de EC no hipotálamo e no tecido intestinal é afectada pela condição alimentar e por diversas hormonas, como a leptina, colecistoquinina e grelina, estando as duas primeiras relacionadas com a diminuição na ingestão alimentar e a última com o aumento do apetite (Piomelli, 2003; Kim et al., 2011). Em vários estudos o SEC demonstrou estar hiperactivado em estados de obesidade, levando a uma desregulação ao nível central mas também influenciando tecidos periféricos, como o tecido adiposo que estimula a lipogénese o que pode influenciar deste modo, o peso corporal e a síndrome metabólica (Godoy-Matos et al., 2006). Uma dieta rica em gorduras aumenta o substrato de ácido gordo polinsaturado para a síntese de EC, sobre-regulando o receptor CB1 em adipócitos. A AEA e 2-AG encontram-se aumentados no plasma de indivíduos obesos e no tecido adiposo, sobretudo na gordura intra-abdominal, estando estes níveis inversamente relacionados com a actividade da FAAH. Alguns estudos correlacionam o polimorfismo no gene para esta enzima com a obesidade (Godoy-Matos et al., 2006; Vemuri et al., 2008; Kim et al., 2011).

A activação de CB1 altera o processamento de nutrientes nomeadamente na secreção gástrica, esvaziamento gástrico, motilidade intestinal e compulsão alimentar. Para níveis hiperinsulinémicos associados à obesidade e diabetes tipo-2, verificou-se a expressão de maior número de receptores CB1 e elevadas concentrações de 2-AG; os adipócitos insulino-resistentes fracassam na regulação do metabolismo dos EC (Kim et al., 2011).



Por isso, os antagonistas do CB1 tornam-se passíveis de modular a ingestão alimentar e controlar a obesidade e resistência insulínica, predisponente ao surgimento da síndrome metabólica (Kim et al., 2011).

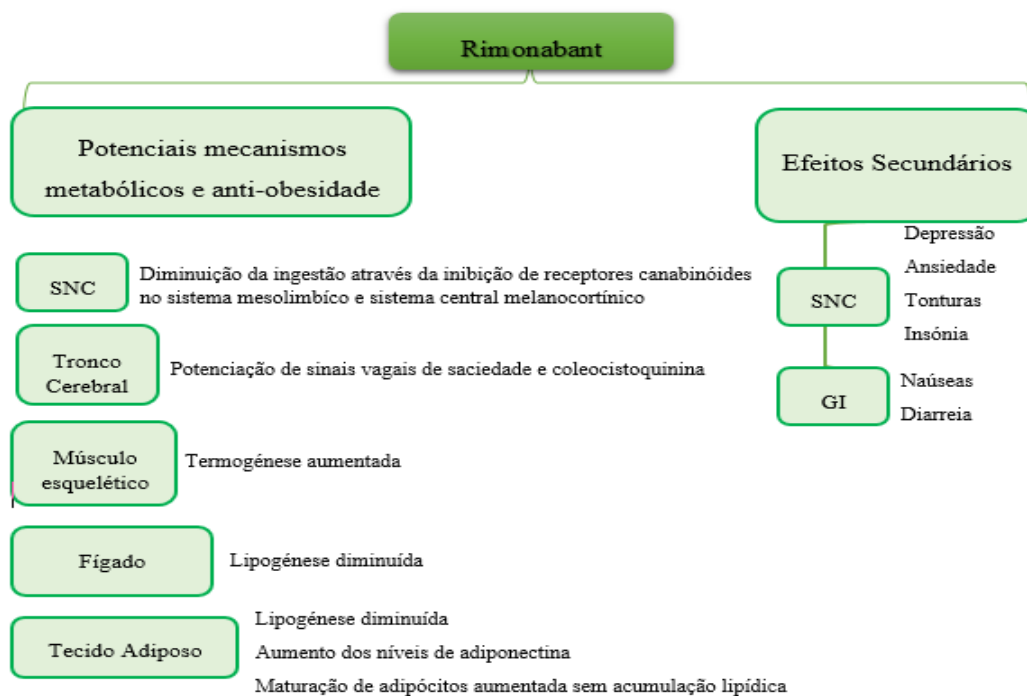
Em 2008, os ensaios pré-clínicos demonstraram de forma consistente que o antagonismo dos receptores CB1 resulta de forma positiva, exercendo efeito anorexígeno (Vemuri et al., 2008).

O antagonista CB1 (SR141716), molécula desenvolvida em 1994 por Rinaldi-Carmona e colaboradores, na Sanofi, conhecido actualmente como rimonabant (Acomplia®), revelou corrigir a hiperglicemia, aprimorar a resistência insulínica e diminuir os níveis de insulina plasmática em ratos obesos. Foi aprovado na supressão do apetite para tratamento da obesidade em Junho de 2006 na União Europeia e disponível em cerca de 56 países, não tendo chegado a obter autorização de comercialização nos EUA. Em primeira instância, o Rimonabant foi idealizado como fármaco com duplo propósito, na obesidade e na cessação tabágica, tendo sido posteriormente abandonado este segundo programa (Padwal & Majumdar, 2007; Kang & Park, 2012).

O programa *RIO-Rimonabant in Obesity* compreendeu o estudo de cerca de 6600 indivíduos sob o efeito de 5mg ou 20mg diárias de rimonabant ou placebo, integrados em 4 estudos: RIO-Europa (2005-2006), RIO-América do Norte (2006-2008), RIO-Lípidos (2005-2006) e RIO-Diabetes (2006-2007); a amostra populacional devia possuir  $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$  ou  $> 27 \text{ Kg/m}^2$  ser portadores de dislipidemia, diabetes tipo 2 ou hipertensão. A administração do fármaco revelou, comparativamente com o placebo, uma redução significativa no peso corporal, de cerca de 4-6 Kg, diminuição do perímetro abdominal e melhorias no perfil lipídico. O estudo RIO-América do Norte teve continuidade por mais um ano relativamente aos demais, tendo os pacientes que passaram do grupo caso (rimonabant) para o grupo controlo (placebo) aumentado de peso (Padwal & Majumdar, 2007).

As intervenções farmacológicas utilizando o rimonabant demonstraram benefícios no redireccionamento do dispêndio energético e controlo de apetite, mas com efeitos adversos indesejáveis. (Di Marzo, 2006; Kim et al., 2011). Na sequência de frequentes relatos de depressão, ansiedade, agressão e sobretudo ideação suicida, foi suspensa a sua comercialização em 2008, por estar em causa a sanidade psiquiátrica dos consumidores e tendo o Comité de Produtos Médicos para Uso Humano (CHMP) concluído que os

benefícios deste fármaco não sobrepassariam os seus riscos (EMEA, 2008; Christensen, Kristensen, Bartels, Bliddal & Astrup, 2007; Pacher & Kunos, 2013; Kang & Park, 2012).



**Figura 10:** Potenciais acções do Rimonabant na obesidade, metabolismo e efeitos secundários. Potenciação de sinais vagais de saciedade e da CCK.

*Adaptado de Padwal & Majumdar (2007)*

## 5.6. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NO CANCRO

Têm sido propostas interessantes propriedades farmacológicas dos canabinóides e o efeito anti-cancerígeno que estes podem desempenhar foram abordados pela primeira vez em 1970 em modelos de adenocarcinoma pulmonar. Subsequentemente têm sido diversos os estudos que demonstram inibição do crescimento tumoral *in vitro* e *in vivo*: no glioblastoma multiforme, peito, próstata, tiróide, cólon, pele, pâncreas, em modelos de leucemia e de linfoma (Bowles et al., 2012).

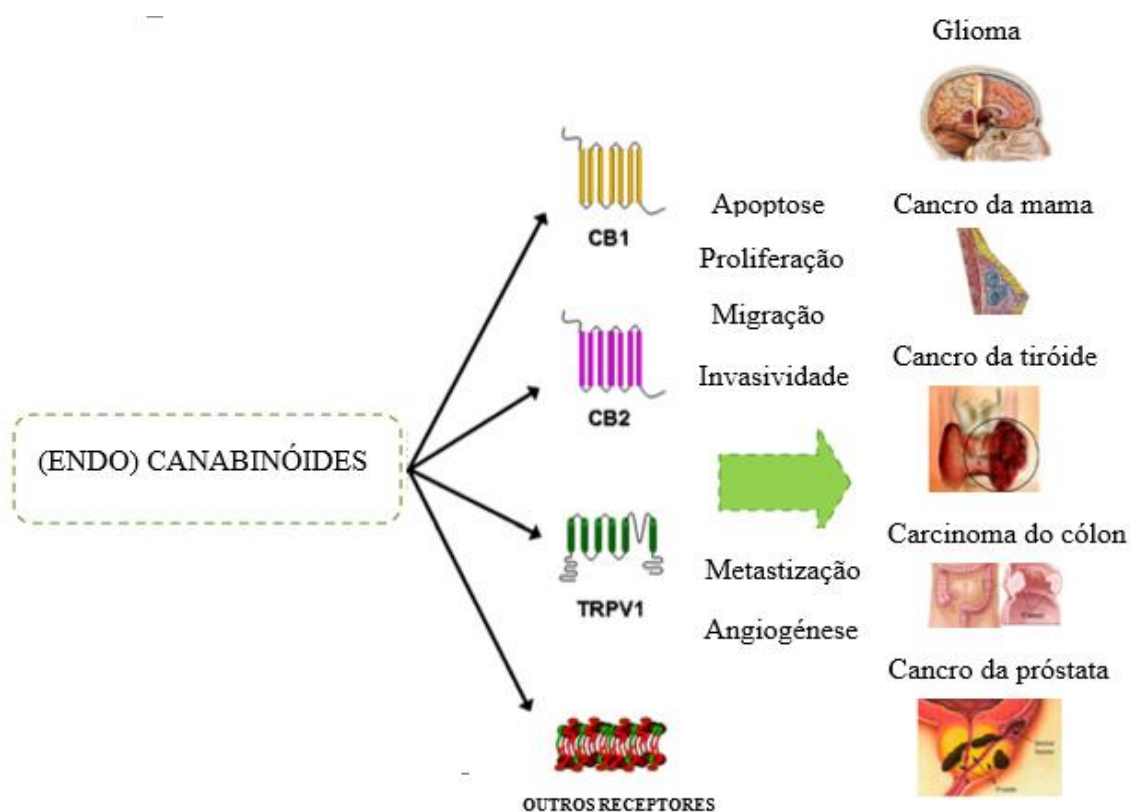
O mecanismo de acção proposto basear-se-á na supressão das vias de sinalização de proliferação celular, inibição da angiogénese e migração celular, estimulação da apoptose e/ou indução de autofagia (Bowles et al., 2012).

Estudos em gliomas com recurso a agonistas dos receptores canabinóides revelaram indução de morte celular por sub-regulação das vias de sinalização MAPK e PI3K/Akt e indução de apoptose através da activação da proteína pró-apoptótica promotora de morte Bcl-2. Células cancerígenas do cólon, quando expostas a canabinóides, está sujeitas a apoptose induzida por ceramida e ao factor de necrose tumoral *in vivo* e *in vitro*. Verifica-se também uma expressão diminuída do factor de crescimento endotelial vascular (VEGF), entre outros factores pró-angiogénicos noutros modelos tumorais e tratados com agonistas CB1/CB2 (Bowles et al., 2012).

Na mediação da actividade anti-cancerígena, o receptor CB2 aparenta ser de maior relevância que o CB1, como observado num ensaio de apoptose mediado pelos dois receptores em células cancerígenas prostáticas expostas a AEA e cuja proliferação foi inibida unicamente através de CB2. Num outro modelo baseado no receptor do factor de crescimento epitelial humano (HER2), positivo para cancro da mama, verificou-se diminuição do tamanho do tumor e diminuição da metastização pulmonar, pela inibição de Akt via CB2 (Bowles et al., 2012).

Os receptores canabinóides encontram-se expressos em elevadas concentrações em células tumorais em vários tipos de cancro. Comparativamente com os correspondentes tecidos sãos, a expressão de CB1 e CB2 correlaciona-se, em vários casos, com o desenvolvimento tumoral. Mais ainda, os canabinóides poderão actuar na inibição selectiva do crescimento tumoral sem comprometer o tecido normal, como se pode constatar pelo facto de que um glioma exposto a canabinóides está sujeito à morte celular induzida pela ceramida, ao passo que os astrócitos são protegidos do *stress* oxidativo analogamente por mediação canabinóide; nalguns tumores verifica-se ainda que a actividade anti-tumoral do THC sofre potenciação pelo CBD (Bowles et al.,

2012). Num estudo de fase I para avaliação da segurança e eficácia do THC em pacientes com glioblastoma multiforme refractário e submetidos a cirurgia ablativa do mesmo, foi colocado um catéter de infusão na zona de ressecção diariamente durante um período de 10-64 dias, com doses entre 0.80 e 3.29 mg de THC que revelou diminuir o crescimento tumoral, bem como a sua imunosustentação e angiogénese. É necessário explorar as potencialidades dos canabinóides a respeito do desenvolvimento cancerígeno e invasividade celular.



**Figura 11:** Efeitos dos Endocanabinóides e Canabinóides na carcinogénese.

*Adaptado de Pisanti & Bifulco (2009)*

### 5.7. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA NEUROPROTECÇÃO

A neurodegeneração está no cerne da morbilidade associada a patologias tais como a doença de Huntington, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, alterações moto-neuronais, traumatismo craniano, isquémia e AVC (Baker et al., 2003; Micale, Mazzola & Drago, 2007). Nestas patologias, por norma é denominador comum a ocorrência de excitotoxicidade glutamatérgica, lesão provocada por espécies reactivas de oxigénio e desequilíbrios iónicos, tornando os neurónios lesados e desmielinizados particularmente vulneráveis. O SEC está envolvido na regulação destes mecanismos potencialmente neurodegenerativos, incluindo a inibição de produção excessiva de glutamato, influxo iónico e *stress* oxidativo (Baker et al., 2003).

Vários estudos imputaram propriedades neuroprotectoras aos EC com base na biologia deste sistema permitindo abrandar a progressão de perturbações neurodegenerativas (Baker et al., 2003; Micale et al., 2007). Foram observados aumentos de AEA e/ou 2-AG em diversos processos envolvendo lesão cerebral ou agressão neuronal, indicando que poderão ter origem na estratégia protectora cerebral. Além disso, em certas patologias neurodegenerativas verifica-se uma diminuição de receptores canabinóides que antecede o desenvolvimento patológico (Baker et al., 2003; Micale et al., 2007).

A função neuroprotectora dos EC, nomeadamente em patologias neuroinflamatórias de certas formas de neurodegeneração tais como a doença de Alzheimer, esclerose lateral amiotrófica, esclerose múltipla, doença de Huntington ou Parkinson terão relação com a presença de CB2, na modulação da libertação de mediadores inflamatórios; o 2-AG como agonista total de CB2 actuará assim de modo parácrino ou autócrino para levar a cabo tais funções (Schmidt, Schäfer, Striggow, Fröhlich & Striggow, 2012; Pazos et al., 2005).

O envolvimento do SEC na neuroprotecção parece tratar-se de um paradigma, na medida em que o bloqueio de CB1 foi relatado também como tendo efeito neuroprotector em certas experiências; a base da controvérsia poderá residir nas diferenças regionais cerebrais e circuitos neuronais implicados (Pazos et al., 2005).

A eficácia da neuroprotecção endógena poderá ser potenciada pelo envolvimento dos receptores CB2 e mediação dos efeitos anti-inflamatórios após enfarte ou lesão traumática cerebral. A inflamação cerebral potencia a neurodegeneração e consequentemente a activação de CB1 e CB2 afectará a morte neuronal cerebral e sobrevivência celular, de maneira eficaz e sinérgica (Schmidt et al., 2012).

Com a revelação da existência de receptores CB1 nas membranas de organelos intracelulares, mais concretamente na mitocôndria, ganha força a participação do SEC na regulação neuroprotectora e neurotóxica cerebral. A mitocôndria providencia energia cerebral sob a forma de ATP e assim, influencia o metabolismo energético. A disfunção mitocondrial é apontada como responsável de diversas patologias do sistema nervoso.

Bénard et al. concluíram assim que a influência do SEC é extensível ao controlo energético e metabólico neuronal: os EC activam o receptor CB1 mitocondrial e a sua acção poderá modelar-se aumentando a sua síntese ou inibindo a sua degradação. Contudo, também neste aspecto se enfrenta um paradigma; a evidência aponta para que a indução EC e consequente activação de CB1 mitocondrial acarretam papel neuroprotector, mas podem ser também prejudiciais durante um AVC para as células neuronais. Algumas patologias fazem-se acompanhar da sobreregulação do SEC influenciando a função mitocondrial o que poderá relacionar-se com certos estados patológicos (Alger & Tang, 2012).

Apesar de ser sempre associadas a uma função de suporte aos neurónios, a evidência crescente é indicativa de que as células da glia participam de modo crucial na manutenção da homeostase do SNC. Em variadas condições patológicas, particularmente no respeitante à ‘resposta gliótica’, processo que toma lugar após ofensa ao SNC, as células gliais moderam as consequências das lesões, e estão associadas aos processos neuroinflamatórios. Os astrócitos, microglia e oligodendrócitos expressam receptores canabinóides, e influenciam a morte ou sobrevivência celular. A remielinização subsequente à lesão inflamatória relaciona-se com o envolvimento dos receptores CB1 e CB2 importantes nestes processos, com participação predominante de CB2 nos eventos de migração e /ou proliferação microglial (Schmidt et al., 2012; Pazos et al., 2005).

### **5.8. O USO DE ENDOCANABINÓIDES E PSICOPATOLOGIAS**

A esquizofrenia como condição crônica debilitante caracteriza-se por pensamento acelerado e desorganizado, alucinações, delírios e apatia, sintomas igualmente experienciados como resultado do consumo de cannabis, que tem sido associado à psicose. As evidências sugerem que os consumidores de cannabis têm uma maior propensão para vir a sofrer surtos psicóticos e desenvolverem esquizofrenia. Alguns autores sugeriram que este efeito é indirectamente mediado pelo SEC, que aumenta os níveis dopaminérgicos (Baker et al., 2003). A relação causal entre o SEC e a esquizofrenia é fundamentada sob várias evidências, particularmente na relação entre a esquizofrenia e doença bipolar no uso prolongado de marijuana (Greineisen & Turner, 2010).

Recorrendo a análise sequencial de ADN e a amostras sanguíneas de indivíduos com distúrbios psicológicos, verificaram-se algumas alterações genéticas em componentes do SEC e níveis de EC são superiores à normalidade (Melamede, 2009). Apesar da conexão entre cannabis e esquizofrenia ser ainda tema sob debate, não havendo clareza nem certeza no assunto, muitas outras psicopatologias e perturbações emocionais têm sido associadas ao uso de canabinóides. Sabe-se há muito que a cannabis produz efeitos na emoção, nomeadamente na ansiedade e depressão (Zanettini et al., 2011). Os inibidores da degradação de AEA pela FAAH (URB597), e inibidores do transporte desta (AM404), conduziram ao aumento do EC em locais implicados na regulação do humor, do processamento emocional e recompensa como o córtex pré-frontal, hipocampo e mesencéfalo, resultando em diminuição da ansiedade e perfil depressivo (Clapper et al., 2009).

Também no complexo basolateral da amígdala, situam-se circuitos neuronais envolvidos no processamento de emoções ricos em receptores CB1. Através do estudo desta estrutura e atendendo a que foram verificadas respostas de agressividade e ansiedade em ratinhos inactivando os CB1, que os estímulos ansiogénicos levaram ao aumento de AEA e 2-AG e que a administração de inibidores de FAAH demonstrou efeitos ansiolíticos, imputou-se um função importante dos EC nos estados afectivos (Piomelli, 2003).

De facto, algumas pesquisas fundamentam, um papel para este sistema EC no tratamento da depressão (Drago, 2007).

### 5.9. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NO SISTEMA CARDIOVASCULAR

Os efeitos cardiovasculares dos canabinóides foram reconhecidos por volta de 1960 e apesar de, desde então, se ter avançado bastante na compreensão desta sistema e seu papel na fisiopatologia cardiovascular, os avanços deram notoriedade à complexidade dos seus efeitos, havendo muitas discrepâncias entre os vários estudos e carência de correlação entre os estudos *in vivo* e *in vitro*. O estado de consciência do modelo animal, a via de administração, as doses aplicadas e a estrutura vascular utilizada são parâmetros que influenciaram os resultados (Mendizábal & Adler-Graschinsky, 2007; Penumarti & Rahman-Abdel, 2014). Uma das discrepâncias surge da comparação de resultados obtidos em experiências animais com os observados nos estudos humanos: a administração de canabinóides no homem é associada a pronunciada taquicardia, em oposição à bradicardia reportada em animais quer conscientes, quer anestesiados esta diferença pode derivar das doses elevadas utilizadas em animais ou do nível de excitação entre os voluntários humanos e os animais de laboratório. A importância dos níveis basais de excitação na resposta cardiovascular canabinóide foi demonstrada num estudo realizado em macacos conscientes num ambiente calmo e previsível e em macacos testados sob condições laboratoriais típicas, ou seja *stressantes*, verificando-se que nos primeiros o THC induziu taquicardia enquanto nos últimos a mesma dose de THC induziu bradicardia. Também no respeitante às diferenças entre as administrações crónica e aguda permanecem dúvidas: a administração aguda de canabinóides relaciona-se com taquicardia e vasoconstrição, e a administração a longo-termo está associada com bradicardia e hipotensão. Poderá estar aqui subjacente o efeito da tolerância (Mendizábal & Adler-Graschinsky, 2007).

Contudo, consensualmente, verifica-se que os canabinóides despoletam hipotensão e bradicardia. Os ensaios *in vitro* levaram à compreensão de que as acções cardiovasculares dos canabinóides são mediadas através da diminuição da neurotransmissão simpática, efeitos vasodilatadores directos e modulação nos nervos sensoriais. Tendo acção sobre a pressão sanguínea, os efeitos agudos resultam em alteração na resistência vascular periférica mas também no débito cardíaco; a resposta hipotensiva associa-se então à diminuição na resistência total periférica e à redução na contractilidade cardíaca, efeitos bloqueados na totalidade pelo rimonabant. Contudo, o bloqueio de CB1 através deste antagonista, a doses que se sabem anular os efeitos



inibitórios dos EC sobre o sistema simpático, não afecta o tónus simpático, tónus vascular ou frequência cardíaca em ratos desmedulados.

A administração de agonistas CB1 não afecta a pressão sanguínea, frequência cardíaca e função cardíaca em roedores normotensos (Bátkai & Pacher, 2009). Há, no entanto, evidência de que os endocanabinóides se manifestam em situações em que as catecolaminas estão aumentadas (numa descarga de adrenalina), ou em condições patológicas nas quais a actividade simpática está exponenciada, como sucede em algumas formas de hipertensão essencial. Preconiza-se que sob estados hipertensivos, os EC limitem a elevação da pressão sanguínea e a contractilidade cardíaca através de activação de CB1; no estudo RIO, os indivíduos obesos tratados durante um ano, mesmo sendo normotensos viram a sua pressão sanguínea diastólica e sistólica ligeiramente diminuída (não se podendo desprezar, todavia, a concomitante perda de peso e sua influência na tensão arterial) (Mendizábal & Adler-Graschinsky, 2007; Bátкаи & Pacher, 2009).

O interesse nas acções directas de vasodilatação dos EC foi crescente a partir dos estudos de Randall et al. (1996) que propuseram que a anandamida pudesse ser um factor de hiperpolarização derivado do endotélio (EDHF), atendendo a que a resposta mediada por EDHF seria sensível ao antagonista de CB1 (rimonabant) e que o relaxamento induzido pela AEA seria anulado pelo aumento de  $K^+$  extracelular e diminuído por bloqueadores dos canais de  $K^+$ , preconizando assim que os EC desempenhariam um papel fisiológico como EDHF. No entanto, a inibição pelo rimonabant do vasorelaxamento por EDHF foi confirmada em alguns estudos mas não noutros (Mendizábal & Adler-Graschinsky, 2007).

A complexidade deste assunto acresce pelo facto de a AEA não interagir apenas com receptores canabinóides, mas também TRPV<sub>1</sub>, possuindo também estes uma função nas acções vasculares.

Em 1999, Zygmunt et al. demonstraram que a AEA induz relaxamento por actuação nos TRPV<sub>1</sub>, através da libertação do péptido relacionado com o gene da calcitonina (CGRP), potente vasodilatador. Porém, sabendo que a hipotensão induzida por AEA está ausente em ratos CB1 *knock-out* e que ratos TRPV<sub>1</sub> *knock-out* possuem um perfil cardiovascular normal, entende-se que a interacção com os receptores vanilóides é de menor relevância no perfil hemodinâmico induzido pela administração de EC, pelo menos no que concerne a condições de normalidade fisiológica. De referir, contudo, que

este mecanismo foi proposto como sendo significativo no choque séptico devido às elevadas concentrações de EC produzidas (Mendizábal & Adler-Graschinsky, 2007).

Apesar dos efeitos depressores cardiovasculares dos canabinóides serem mediados principalmente pelos receptores CB1 localizados periféricamente, podem também interagir com outros receptores: em ratos CB1 e/ou CB2 *knock-out* verificou-se a existência de pelo menos dois receptores reguladores das funções vascular e neuronal sensíveis aos EC. Os ensaios *in vitro* que fundamentam a existência de um novo receptor endotelial, baseiam-se na observação do análogo de canabidiol, o canabidiol-anormal (abn-CBD), que não interage com CB1 e CB2, mas que é, de algum modo, sensível à inibição pelo rimonabant. Tem sido especulado que a activação deste receptor endotelial possa estar acoplado à libertação de óxido nítrico (NO) com consequente abertura dos canais de K<sup>+</sup> no músculo liso vascular culminando em relaxamento e vasodilatação. O canabidiol e um análogo sintético deste (O-1918) bloqueiam as acções vasodilatadoras de abn-CBD; supõe-se que enquanto o abn-CBD actua como agonista selectivo do receptor endotelial canabinóide, o canabidiol e seu análogo actuam como antagonistas específicos neste novo receptor (Mendizábal & Adler-Graschinsky, 2007).

Os estudos mais recentes permitiram a identificação do receptor GPR18 que possui como ligando endógeno a N-araquidonil glicina (NAGly). A localização deste receptor tem estreita relação com o controlo central simpático do tónus vascular e a pressão sanguínea, sendo que a sua activação e bloqueio resulta em redução e elevação, respectivamente, da pressão sanguínea. O ligando endógeno NAGly, conduz ao aumento de adiponectina e óxido nítrico reduzindo o *stress* oxidativo, e tem ainda a capacidade de inibir a FAAH aumentando os níveis de AEA (Penumarti & Rahman-Abdel, 2014).

Pressupõe-se assim que a manipulação farmacológica do SEC possa providenciar novas abordagens na terapêutica do sistema cardiovascular: fármacos anti-hipertensivos, fármacos para tratar o enfarte agudo do miocárdio (onde os receptores CB1 são mediadores inotrópicos negativos), o choque circulatório, a cardiomiopatia cirrótica e a falência cardíaca (Penumarti & Rahman-Abdel, 2014; Bátкаи & Pacher, 2009; Mendizábal & Adler-Graschinsky, 2007).

## **5.10. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NOS COMPORTAMENTOS ADITIVOS**

### **5.10.1. DEPENDÊNCIA ALCOÓLICA**

O alcoolismo constitui na actualidade uma dependência de elevado impacto social e económico, influenciando as taxas de incapacidade, morbilidade e mortalidade e comprometendo a fisiologia de vários órgãos e tecidos (Erdozain & Callado, 2011).

Caracteriza-se fundamentalmente pelos seus fenómenos de tolerância e dependência, existindo contudo poucos tratamentos eficazes disponíveis (Basavarajappa, 2007).

Apesar de Rademacher & Hillard (2007) afirmarem que a literatura é dúbia relativamente ao papel dos EC ns mecanismos de recompensa, a generalidade dos investigadores defende que o álcool afecta os sistemas neuroquímico e endócrino, entre os quais se encontra o SEC, através do sistema límbico e sua associação ao prazer (Erdozain & Callado, 2011; Drago, 2007; Erdozain & Callado, 2011; D'Addario et al., 2014).

A existência dos EC no tálamo, hipocampo, córtex, estriado, substância nigra e cerebelo corrobora as suas funções no sistema motor e cognitivo e nas alterações comportamentais despoletados pelo álcool, nomeadamente perturbação da memória, comprometimento da actividade motora, catalepsia, anti-nocicepção e hipotermia (Basavarajappa, 2007).

Existe uma clara relação entre a hiperactividade da sinalização canabinóide e alcoolismo; um estudo levado a cabo em cérebros *post-mortem* de indivíduos alcoólicos revelou que existe uma maior densidade e funcionalidade de AEA e 2-AG e, além disso, os autores sugerem que a hiperactividade EC no córtex pré-frontal pode subjazer como potencial factor desencadente de suicídio no alcoolismo (Erdozain & Callado, 2011).

Nestas circunstâncias, fármacos que actuem na inibição do seu metabolismo (por exemplo o inibidor da FAAH, URB597) e inibidores da recaptção de AM<sub>T</sub> (como a AM404), podem ser direccionados a locais alvo com efeitos secundários limitados nas áreas limítrofes, possuindo um maior valor terapêutico (Basavarajappa, 2007).

A eficácia do bloqueio do receptor canabinóide tem sido avaliada em ensaios clínicos na prevenção das recaídas na abstinência de substâncias de abuso, nomeadamente estudando o rimonabant e surinabant, que têm demonstrado reduzir o consumo e comportamento alcoólico e com efeitos também na cessação tabágica (Erdozain & Callado, 2011; Rademacher & Hillard, 2007; Basavarajappa, 2007).

### 5.10.2. DEPENDÊNCIA CANABINÓIDE

Entre os adolescentes, o consumo de marijuana é comum e tem correlação directa com o uso continuado ao longo da vida. A ocorrência da síndrome de dependência do uso de cannabis foi demonstrado recorrendo a primatas nos quais o  $\Delta^9$ -THC possui propriedades de reforço e pelo facto da retirada do mesmo resultar em síndrome de abstinência. A síndrome de abstinência de canabinóides caracteriza-se por irritabilidade, ansiedade, estado depressivo, diminuição do apetite e insónia, e o desconforto associado culmina geralmente na recaída. As intervenções farmacoterapêuticas no tratamento deste quadro urgem e são de extrema importância (Clapper et al., 2009; Levin et al., 2011).

No tratamento desta síndrome, para além dos fármacos antidepressivos e ansiolíticos, as opções aprovadas passam também pelas intervenções psicoterapêuticas, de eficácia moderada; recentes estudos sugerem a substituição por  $\Delta^9$ -THC oral em baixa dosagem com potencial de reduzir a severidade dos sintomas mencionados em fumadores de cannabis.

O dronabinol, bem tolerado, é promissor no tratamento da dependência canabinóide, como revela um ensaio clínico de caso-controlo conduzido por Levin et al., (2011) cujos dados demonstram uma maior adesão à terapêutica e redução dos sintomas de abstinência mais favoráveis para o grupo tratado com o agonista de THC; contudo, não ocorreram diferenças significativas entre os dois grupos no que respeita à diminuição do consumo de cannabis, falhando na demonstração de eficácia em reduzir a dependência. Os autores sugerem que estudos futuros deverão utilizar nos seus ensaios doses superiores a 20 mg duas vezes/dia, a fim de reduzir esta necessidade dos utilizadores em continuar a consumir marijuana, devendo ser equacionada também a combinação com outros fármacos de mecanismo complementar.

A intervenção com recurso a bloqueadores de CB1 é também abordada nos estudos citados mas revelando alterações de humor severas aumentando em cerca de oito vezes ansiedade e depressão (Clapper et al., 2009).

O sistema endocanabinóide revela assim, ser um claro alvo terapêutico nos comportamentos aditivos (Erdozain & Callado, 2011; Rademacher & Hillard, 2007; Basaravajappa, 2007).

### 5.11. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA INSÓNIA

A insónia, mais comum conhecida perturbação do sono, tem participação de relevo na depressão e ansiedade, diminuindo a qualidade de vida e levando aos que dela padecem a procurar resolução para o seu problema (Gates et al., 2014).

A utilização de cannabis medicinal não contempla a indicação/prescrição em perturbações psicológicas onde o sono está afecto, apesar de 5 dos 20 estados com lei aprovada no uso de cannabis medicinal permitir a sua indicação no *stress* pós-traumático onde a insónia é frequente (Bonn-Miller et al., 2014). No entanto, à margem da lei, cerca de ¼ dos consumidores de cannabis abordados no estudo de Gates et al., (2014) fazem-no com intenção de auxiliar a indução do sono. De facto, data de 1970 a primeira vez que foi estudada a relação entre a cannabis, o relaxamento e sonolência que esta desencadeia (Gates et al., 2014).

Estudos recentes demonstram que componentes psicoativos específicos da marijuana facilitam o início ou indução de sono, apesar de ressaltarem que o uso a longo prazo está associado a perturbações do sono incluindo a arquitectura do mesmo, constituindo inclusivamente um dos sintomas mais comuns experienciados na síndrome de abstinência de canabinóides (Bonn-Miller et al., 2014; Gates et al., 2014).

Este paradigma aparentemente contraditório é clarificado recorrendo a uma amostra populacional de utilizadores de Sativex<sup>®</sup> na dor espástica, através da qual se constata que a melhoria da patologia de base facilitou a indução do sono, isto é, quando os doentes referem dormir melhor existe um factor confundente, que se trata do alívio da dor, o que efectivamente conduz a um descanso restabelecido (Gates et al., 2014).

Num estudo de Rueda-Orozco e colaboradores (2010), verificou-se que a administração de EC no hipocampo desencadeia sono REM (*rapid eye movement*) havendo evidência que a estimulação química das áreas límbicas despoleta estes fenómenos. A administração de rimonabant propicia o estado de vigília, implicando os canabinóides nessa regulação.

As perspectivas farmacológicas e farmacêuticas apontam para novas estratégias de desenvolvimento de fármacos agonistas e antagonistas que poderão ser úteis na insónia e na narcolepsia, respectivamente (Murillo-Rodríguez, 2008).

### **5.12. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA FERTILIDADE E RELAÇÃO COM O SISTEMA REPRODUTOR**

A infertilidade afecta 1 em cada 6 casais e é, à parte da mortalidade e migração, um dos factores determinantes do crescimento e composição populacional.

O consumo de marijuana tem sido associado a este problema mas também relacionado a abortos espontâneos, ruptura placentária, parto prematuro, aumento de nados mortos e nascimento de bebés com baixo peso (Taylor et al., 2010; Battista et al., 2012).

Lewis & Macarro afirmaram em 2009 que “o THC é reconhecido como a maior ameaça para a reprodução nos consumidores de marijuana”.

O envolvimento deste composto na fecundação e gravidez sugere que os EC modulam a reprodução. A AEA é necessária em elevados concentrações para um bem-sucedido processo ovulatório enquanto que baixos níveis permitem a concretização de uma gravidez bem sucedida, inclusivamente, após o tratamento de fertilização *in vitro* (Battista et al., 2012; Taylor et al., 2010). As enzimas metabólicas de AEA e receptores foram encontradas no endométrio, ovário e durante o desenvolvimento embrionário, o que leva a crer na sua actuação na foliculogénese, maturação folicular pré-ovulatória, maturação dos oócitos e ovulação. No homem, os EC foram identificados no sémen, tecidos reproductivos, células de Leydig e Sertoli do testículo e espermatozoides, atribuindo-se 40% do insucesso no processo de fecundação à baixa quantificação de espermatozoides (Lewis & Macarrone, 2009; Battista et al., 2012).

Muitas das funções supramencionadas estão sob controlo neuroendócrino através da comunicação entre o hipotálamo-pituitária e gónadas, e sendo deste processo intervenientes os endocanabinóides, que regulam o eixo diminuindo/suprimindo os níveis das hormonas FSH e LH reguladores das gonadas (Taylor et al., 2010).

Os EC em várias experiências revelaram também actuar como moduladores no comportamento sexual, despertando a libido nas mulheres e condicionando a motivação sexual e erecção em homens (Battista et al., 2012).

As principais acções do SEC sobre os sistemas supramencionados estão resumidas na tabela 4:

**Tabela 4:** Acções biológicas mediadas por receptores canabinóides e vanilóides nos eventos reprodutivos.*Adaptado de Battista et al. (2012)*

<b>Receptor</b>	<b>Efeito no homem</b>	<b>Efeito na mulher</b>
<b>CB1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Controlo da viabilidade e motilidade dos espermatozóides</li> <li>- Modulação do metabolismo</li> <li>- Inibição da reacção acrossómica na zona pelúcida</li> <li>- Controlo do número de células de Leydig adultas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transporte do embrião do útero ao oviducto</li> <li>- Sobrevivência embrionária ou morte programada</li> <li>- Implatação embrionária e desenvolvimento</li> <li>- Imunoregulação da gestação</li> <li>- Formação da placenta</li> <li>- Parto</li> </ul>
<b>CB2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Indução da espermatogénese</li> <li>- Regulação da velocidade na motilidade espermatozoide</li> <li>- Efeito anti-apoptótico nas células de Sertoli</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Desenvolvimento embrionário</li> <li>- Bloqueio da proliferação trofoblástica</li> </ul>

A desregulação do sistema endocanabinóide parece estar patente em certas funções relacionadas com o sistema reprodutivo, nomeadamente, verifica-se que baixos níveis de anandamida conduzem a uma bem-sucedida fecundação e implantação uterina. Crê-se assim, que nesta área os potenciais fármacos a desenvolver passem por se tratar de moléculas capacitadas a potenciarem a actividade da enzima de degradação do EC, a FAAH (Lewis & Maccarrone, 2009).

O SEC pode ser também implicado, futuramente, no desenvolvimento de ferramentas que permitam a detecção e avaliação da expressão de FAAH (já que esta modula os níveis de AEA) em mulheres fecundadas via fertilização *in vitro*, o que permitiria tecer prognósticos acerca do desenrolar da gravidez (Battista et al., 2012; Lewis & Maccarrone, 2009).

### 5.13. O USO DE ENDOCANABINÓIDES E A IMUNOACTIVIDADE

Tanto a nível periférico como central, os endocanabinóides estão implicados no controlo das respostas imunológicas, sendo considerados importantes imunomoduladores; as células imunitárias são capazes de expressar ambos os receptores canabinóides, sintetizá-los, secretar e catabolizar os mesmos (Greineisen & Turner, 2010). As suas principais funções, a nível periférico, estão resumidas na tabela 5:

**Tabela 5:** Efeitos dos endocanabinóides em diferentes funções imunitárias.

*Adaptado de Pandey, Mousawy, Nagarkatti & Nagarkatti (2009)*

<b>Células Imunitárias</b>	<b>Funções Afectadas</b>	<b>Receptor envolvido</b>
<i>Linfócitos T</i>	Proliferação; morte celular por apoptose; secreção de citocinas Th1/Th2; polarização, número celular.	CB2
<i>Linfócitos B</i>	Inibição da formação de anticorpos; produção de Ig; troca de isotipo Ig; proliferação; número celular.	CB1 e CB2
<i>Linha Celular Hematopoiética</i>	Crescimento celular	Não-CB1, CB2
<i>Macrófagos</i>	Diminuição dos mediadores de inflamação; apresentação antigénica; migração; fagocitose; adesão aumentada.	CB2
<i>Mastócitos</i>	Sub-modulação da activação mastocitária; Diminuição do TNF- $\alpha$ ; diminuição da angiogénese dependente de mastócitos.	Não-CB1, CB1, CB2
<i>Células Dendríticas</i>	Maturação e crescimento; apoptose; recrutamento na resposta imune inata.	CB1, CB2
<i>Células NK e Neutrófilos</i>	Actividade citolítica; citocinas, quimiocinas.	Não-CB1, CB2
<i>Células cancerígenas</i>	Apoptose; inibição do crescimento; interrupção do ciclo celular.	CB1, CB2, TRPV <sub>1</sub> , balsas lipídicas

De acordo com a evidência, os canabinóides suprimem vários elementos da resposta imunitária, verificando-se que a exposição ao THC modifica a proliferação de células T, diminuindo-a; observou-se também que a cannabis e os seus análogos suprimem os níveis de imunoglobulina sérica, modificam a morfologia e metabolismo de macrófagos alveolares. No rato, os macrófagos peritoneais vêem suprimidas a difusão e fagocitose,



citólise e produção de citocinas. Diminui as funções citotóxicas e suprime a função killer, fulcral na imunidade anti-viral das células T CD<sup>8+</sup> e NK (Greineisen & Turner, 2010).

O receptor CB2 parece exercer uma actividade mais activa na imunomodulação que o CB1 o que se poderá dever em parte à expressão muito superior destes receptores em células imunitárias. Modelos animais *knock-out* para CB2 permitem concluir o papel imunossupressivo dos EC, sendo responsáveis pela atenuação da reacção inflamatória e autoimunidade (Greineisen & Turner, 2010).

Contudo, existe um paradoxo também na imunoactividade, ocorrendo na generalidade promoção e potenciação de respostas imunitárias mas nem todo o processo imunomodulatório pelos canabinóides pode ser considerado imunossupressivo: em ratos CB2 *knock-out* as lesões ateroscleróticas, que possuem carácter inflamatório são mais pronunciadas devido à atenuação da apoptose dos macrófagos lipídico-induzida. A fisiopatologia da aterosclerose é sugestiva de possuir na sua etiologia um carácter inflamatório, desde o processo de iniciação ao desenrolar das complicações. Os receptores CB2 revelam estar implicados na modulação da quimiotaxia, e ter um papel crucial no recrutamento de leucócitos no processo inflamatório. Em ratos, a activação de CB2 pelo THC, inibiu a progressão da placa aterosclerótica (Montecucco et al., 2009).

Alguns testes antigénicos sugerem o envolvimento do SEC na inflamação promovendo reacções alérgicas. Verifica-se *in vitro*, que após exposição a canabinóides ocorre inibição de resposta citotóxica mediada por CD<sup>8+</sup> mas simultaneamente também activação das células CD4<sup>+</sup> e TH2 (Pandey, Mousawy, Nagarkatti & Nagarkatti; 2009).

Os mastócitos são também eles alvos dos canabinóides, que na ligação a CB2 suprimem a libertação de mediadores pró-inflamatórios. Estes dados, conjuntamente com a evidência que os canabinóides suprimem a inflamação no tracto respiratório e intestinal, fortalecem a noção de que os canabinóides podem servir de base para o desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios (Pandey et al., 2009; Greineisen & Turner, 2010).

Devem existir certos constrangimentos na terapêutica canabinóide atendendo ao quadro clínico em causa. De facto em doentes oncológicos e imunodeficientes, o papel imunossupressor dos canabinóides deve ser tomado em conta (Greineisen & Turner, 2010; Pandey et al., 2009).

Agonistas de elevada afinidade são descritos neste âmbito embora o seu potencial terapêutico não esteja estabelecido. Há particular interesse no THC na forma oral ou inalatória, que pode suprimir a inflamação gastrointestinal e das vias aéreas, especulando-se ser exequível o *design* de fármacos no tratamento da asma, doença pulmonar obstrutiva crónica e doença de Crohn (Pandey et al., 2009).

#### **5.14. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NO CONTROLO DA EXCITABILIDADE NEURONAL**

O facto do sistema endocanabinóide estar envolvido no controlo da excitabilidade neuronal através da activação de CB1, leva a que a modulação do mesmo seja potencial alvo em patologias cuja actividade motora se encontra de algum modo alterada (Arslan, Ayyildiz & Agar, 2014; Giuffrida & McMahon, 2010). A epilepsia e a doença de Parkinson constituem algumas destas patologias. A primeira, considerada uma das mais prevalentes perturbações neurológicas, é caracterizada por convulsões recorrentes e sem motivo aparente e na qual ocorre um mecanismo complexo de hiperexcitabilidade neuronal; o Parkinson, por seu turno, é uma doença neurodegenerativa na qual a diminuição da neurotransmissão dopaminérgica e aumento da colinérgica resultam em discinesia, acatisia e tremor fino (Manual Merck, 2014; Arslan et al., 2014).

Os estudos científicos que suportam o uso de marijuana são mais prevalentes em certas patologias em detrimento de outras. É o que sucede na epilepsia, em que há limitados dados na fundamentação do uso de cannabis ou canabinóides orais como agentes anti-epilépticos, surgindo inclusivamente nalguns casos clínicos resultados dúbios que lhes imputam efeitos convulsivantes (vários estudos com modelos animais indicam ambos efeito convulsivante e pré-convulsivante) (Hofmann & Frazier, 2013).

Devido à dúvida patente a respeito do efeito anti-convulsivante ou pró-convulsivante dos canabinóides, Hofmann & Frazier (2013) referem que, na actualidade, a melhor evidência de que o SEC é apropriado e de facto ter potencial no desenvolvimento de fármacos anti-epilépticos não deriva dos limitados dados científicos, mas sim da compreensão da influência desta sistema na regulação da excitabilidade cortical, das suas alterações nas convulsões ou na epilepsia e os estudos da sua modulação em modelos *in vitro* e *in vivo*. Crê-se que a expressão de CB1 está sobre-regulada nas sinapses gabaérgicas e sub-regulada nas sinapses glutamatérgicas nesta patologia, levando a uma menor inibição e maior estimulação das células neuronais.

Num modelo de epilepsia induzida pela penicilina, Arslan et al. (2014), obtiveram dados que correlacionam o agonista de CB1, araquidonilcloro etanolamina (ACEA) como possuindo actividade anti-convulsivante e o antagonista AM-251 como possuindo efeito pró-convulsivante (0.25 e 0.50µg de AM-251 aumentaram a frequência convulsivante nos 30 minutos seguintes à administração). Outros estudos demonstraram também que a activação agonista de CB1 tinha propriedades anti-convulsivantes em

modelo submetido a electrochoque, modelo epiléptico induzido pela pilocarpina, modelo *in vitro* de epilepsia em culturas neuronais hipocampais e modelos convulsivante mioclónico em roedores despoletado por pentilenetetrazole (PTZ) (Arslan et al., 2014).

Hill et al., (2014) pensam que a actividade anti-convulsivante dos canabinóides se atribua ao canabidiol (CBD) e relacionaram-no com a sua ação nos canais de Na<sup>+</sup> voltagem-dependentes (alvos de certos fármacos nesta patologia). Apesar da baixa afinidade para CB1 e actividade preferencial em canais iónicos comparativamente com o THC, o bloqueio dos canais de Na<sup>+</sup> pelo CBD não se pode considerar anti-convulsivante por si só, sendo bloqueador do canal com afinidade no espectro do µM. Portanto, o mecanismo subjacente à supressão das convulsões permanece desconhecido. Mas o CBD é actualmente usado na epilepsia não-respondente a terapêutica convencional em crianças (Hill et al., 2014).

Também no que respeita à doença de Parkinson, a utilização de agonistas e antagonistas tem produzido resultados díspares. Nesta patologia, os dados científicos evidenciam a relação entre o SEC e o sistema dopaminérgico em áreas cerebrais que regulam a função motora. Além disso, os receptores CB1 e D1/D2 estão co-localizados nos neurónios do estriado, os EC e inibidores de FAAH controlam a actividade dopaminérgica e esta estimulação conduz ao aumento de AEA. A função desta será diminuir por transporte retrógrado a atividade dos neurónios dopaminérgicos e constituir um mecanismo de *feedback*, permitindo a regulação da atividade motora. Uma anormalidade na transmissão dopaminérgica, como sucede na doença de Parkinson, poderá influenciar esta sinalização endocanabinoérgica no núcleo estriado (Giuffrida & McMahon, 2010). Os canabinóides exercem também efeitos anti-discinésicos através da modulação do fluxo glutamatérgico cortico-estriatal, e /ou através do recrutamento EC na mediação da plasticidade sináptica estriatal. Os inibidores de FAAH demonstraram, analogamente, reduzir a hiperactividade despoletada pela dopamina e a hiperkinésia na doença de Huntington, em ratos. No entanto, isoladamente não resultam em anti-discinésia, o que é sugestivo de que o aumento de AEA é insuficiente para colmatar a discinésia provocada pela levodopa, fármaco utilizado no tratamento da doença de Parkinson (Giuffrida & McMahon, 2010).

### 5.15. O USO DE ENDOCANABINÓIDES NA OSTEOPOROSE

Nos osteoclastos de mulheres não menopáusicas, a activação de CB2 e CB1 inibe e estimula a actividade celular, respectivamente; expressam também canais TRPV<sub>1</sub>, e a activação destes estimula fortemente a expressão de marcadores de actividade osteoclástica. As enzimas para a biossíntese e inactivação de AEA, isto é, NAPE-PLD e FAAH-1, foram também encontradas nestas células (Di Marzo & De Petrocellis, 2012). Os receptores CB1 e TRPV<sub>1</sub> e a AEA, encontram-se em maior concentração nos osteoclastos de mulheres pós-menopáusicas com osteoporose, que em relação aos osteoclastos de mulheres pós-menopáusicas não osteoporóticas, enquanto a expressão de 2-AG não sofre alterações. Contrariamente, nos osteoclastos provenientes de mulheres não menopáusicas ou menopáusicas não osteoporóticas, existe uma ligeira elevação da expressão de receptores CB1 e uma acentuada elevação dos níveis de CB2. Os autores Di Marzo & De Petrocellis (2012), acreditam que a intervenção farmacológica no processo osteoporótico seja possível de ocorrer em consequência da activação de TRPV<sub>1</sub> nos osteoclastos reduzindo ao invés de aumentar a actividade destes, através da troca de estimulação de Ca<sup>2+</sup> a partir do TRPV<sub>1</sub>, passando a haver estimulação de expressão de receptor canabinóide pelo TRPV<sub>1</sub>, sobrerregulando CB2 com consequente aumento da razão CB2/CB1 e, por último, levando a que AEA actue preferencialmente sob CB2.

Terapeuticamente, estas conclusões poderão servir de rampa de lançamento ao estudo e *design* de novos agonistas dos receptores CB2 e de moléculas que afectem TRPV<sub>1</sub>, como possíveis tratamentos na osteoporose.

## 6. EFEITOS ADVERSOS DOS CANABINÓIDES

Ainda que sejam vastas as funções fisiológicas e as implicações fisiopatológicas nas quais a utilização de canabinóides seja positiva, devido ao ainda escasso conhecimento deste sistema, os efeitos adversos destas substâncias devem ser tidos em conta.

O início da acção canabinóide dá-se mais rapidamente no seguimento da inalação da cannabis fumada que pela ingestão oral canabinóide mas contrariamente à cannabis fumada, a ingestão oral possui um início de acção mais lento (Grant & Cahn, 2005). Os efeitos adversos mais commumente despoletados estão descritos na tabela 6:

**Tabela 6:** Principais efeitos indesejados dos Canabinóides.

*Adaptado de Howard et al., (2013)*

<b>Psicológicos</b>	<b>Neurológicos</b>	<b>GI</b>	<b>CV</b>	<b>Irritação bucal (*)</b>
Depressão	Tonturas	Apetite	Palpitações	Dor
Euforia	Ataxia	Náuseas	Taquicardia	Ulceração
Desorientação	Amnésia	Dor abdominal	Síncope	Descoloração
Dissociação	Sonolência		Hipertensão	
Alucinações	Visão turva		Hipotensão	
Paranóia				
Delírios				
Ideação suicida				

*GI: Gastrointestinais; CV: Cardiovasculares; \* Só aplicável para o Sativex®*

## 7. CONCLUSÃO

Com foi exposto nesta monografia, os canabinóides e o sistema endógeno canabinóide foram extensamente estudados e implicados na regulação de diversos processos fisiológicos.

Este sistema é já alvo farmacológico para o tratamento de diversas patologias. Contudo, revelou-se extremamente complexo, com múltiplas interações e actuando em diversos tipos celulares (neurais e não neurais). Por isso, vários autores preconizam que é necessário conhecer melhor a biologia, fisiologia e patofisiologia do cérebro humano, a fim de permitir avanços significativos na utilização destas moléculas na terapêutica.

A complexa morosidade burocrática e legal, bem como o facto de estas substâncias permanecerem caracterizadas como não detentoras de potencial terapêutico por algumas entidades, constitui ainda na actualidade um obstáculo enfrentado pela comunidade científica na obtenção de autorização para dar início às suas pesquisas. Diversos autores defendem que urgem medidas interventivas regulamentares e legais, que permitem que o  $\Delta^9$ -THC e outros canabinóides sejam incluídos numa classificação mais permissiva, como o que sucedeu com os opiáceos e seus análogos. Uma das questões de preocupação legal coaduna-se com o facto de que a cannabis medicinal possa estar ao alcance não só de doentes como de utilizadores recreacionais.

Persiste, evidentemente, receio quanto aos efeitos indesejados despoletados pela marijuana. Os efeitos das moléculas capazes de alterar o SEC, têm por base a avaliação de ensaios motores e comportamentais, sobretudo em modelo animal, que não permite aceder de forma íntegra às acções psicoactivas e adversas dos canabinóides. Além do mais, o cérebro humano é bem mais complexo que o cérebro de ratos ou macacos.

É assim necessário que se efectuem ensaios clínicos, randomizados e heterogéneos, longitudinais e preferencialmente prospectivos, à semelhança dos análogos dos opiáceos, para que se possa obter informação necessária para a investigação e desenvolvimento de fármacos.

Será esta portanto, a missão de farmacêuticos, químicos e cientistas: a de conseguir a formulação de novas moléculas, com perfis favoráveis de benefício/risco, capacitadas de interagir positivamente com um sistema plástico, pleiotrópico e com tanto potencial como é o sistema endocanabinóide.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alger, B. E., & Tang, A.-H. (2012). Do cannabinoids reduce brain power? *Nature Neuroscience*, 15(4), 499–501. doi:10.1038/nn.3072
- Arslan, G., Ayyildiz, M., Agar, E. (2014) The interaction between ghrelin and cannabinoid systems in penicillin-induced epileptiform activity in rats, *Neuropeptides*, doi: 10.1016/j.npep.2014.09.003
- Baker, D., Pryce, G., Giovannoni, G., & Thompson, A. J. (2003). The therapeutic potential of cannabis. *The Lancet*, 2, 291–298. PMID: 12849183
- Baker, D., Pryce, G., Jackson, S. J., Bolton, C., & Giovannoni, G. (2012). The biology that underpins the therapeutic potential of cannabis-based medicines for the control of spasticity in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 1(2), 64–75. doi:10.1016/j.msard.2011.11.001
- Basavarajappa, B. S. (2007). The endocannabinoid signalling system: a potential target for next-generation therapeutics for alcoholism. *Mini Rev Med Chem.*, 7(8), 769–779. PMID: 17692039
- Bátkai, S., & Pacher, P. (2009). Endocannabinoids and cardiac contractile function: Pathophysiological implications. *Pharmacological Research*, 60(2), 99–106. doi:10.1016/j.phrs.2009.04.003
- Battista, N., Meccariello, R., Cobellis, G., Fasano, S., Di Tommaso, M., Pirazzi, V., ... Maccarrone, M. (2012). The role of endocannabinoids in gonadal function and fertility along the evolutionary axis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 355(1), 1–14. doi:10.1016/j.mce.2012.01.014
- Berry, E. M., & Mechoulam, R. (2002). Tetrahydrocannabinol and endocannabinoids in feeding and appetite. *Pharmacology & Therapeutics*, 95(2), 185–90. PMID: 12182965



- Bewley-Taylor, D., & Jelsma, M. (2012). Regime change: re-visiting the 1961 Single Convention on Narcotic Drugs. *The International Journal on Drug Policy*, 23(1), 72–81. doi:10.1016/j.drugpo.2011.08.003
- Bisogno, T., Berrendero, F., Ambrosino, G., Cebeira, M., Ramos, J. a, Fernandez-Ruiz, J. J., & Di Marzo, V. (1999). Brain regional distribution of endocannabinoids: implications for their biosynthesis and biological function. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 256(2), 377–80. doi:10.1006/bbrc.1999.0254
- Bisogno, T., Ligresti, A., & Di Marzo, V. (2005). The endocannabinoid signalling system: biochemical aspects. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 81(2), 224–38. doi:10.1016/j.pbb.2005.01.027
- Bonn-Miller, M. O., Babson, K. a, & Vandrey, R. (2014). Using cannabis to help you sleep: heightened frequency of medical cannabis use among those with PTSD. *Drug and Alcohol Dependence*, 136, 162–5. doi:10.1016/j.drugalcdep.2013.12.008
- Bostwick, J. M. (2014). The use of cannabis for management of chronic pain. *General Hospital Psychiatry*, 36(1), 2–3. doi:10.1016/j.genhosppsych.2013.08.004
- Bowles, D. W., O'Bryant, C. L., Camidge, D. R., & Jimeno, A. (2012). The intersection between cannabis and cancer in the United States. *Critical Reviews in Oncology/hematology*, 83(1), 1–10. doi:10.1016/j.critrevonc.2011.09.008
- Christensen, R., Kristensen, P. K., Bartels, E. M., Bliddal, H., & Astrup, A. (2007). Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet*, 370(9600), 1706–13. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61721-8
- Clapper, J. R., Mangieri, R. A., & Piomelli, D. (2010). The endocannabinoid system as a target for the treatment of Cannabis dependence. *Neuropharmacology*, 56(1), 235–243. doi: 10.1016/j.neuropharm.2008.07.018

- D'Addario, C., DiBonaventura, M. V., Pucci, M., Romano, A., Gaetani, S., Ciccocioppo, R., ... Maccarrone, M. (2014). Endocannabinoid signaling and food addiction. *Neurosci. Biobehav. Rev*, 1–22. doi: 10.1016/j.neubiorev.2014.08.008
- Decorte, T. (2011) Fibre hemp and marihuana: assessing the differences between distinct varieties. *International Police Executive Symposium, Geneva Centre For the Democratic Control of Armed Forces*, 38. Disponível em <https://biblio.ugent.be/input/download?func=downloadFile&recordId=1923220&fileId=1923221>
- De Petrocellis, L., & Di Marzo, V. (2009). An introduction to the endocannabinoid system: from the early to the latest concepts. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 23(1), 1–15. doi:10.1016/j.beem.2008.10.013
- De Petrocellis, L., Ligresti, A., Moriello, A. S., Allarà, M., Bisogno, T., Petrosino, S., Di Marzo, V. (2011). Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1479–94. doi:10.1111/j.1476-5381.2010.01166.x
- Di Marzo, V. (2006). A brief history of cannabinoid and endocannabinoid pharmacology as inspired by the work of British scientists. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27(3), 134–40. doi:10.1016/j.tips.2006.01.010
- Di Marzo, V. (2009). The endocannabinoid system: its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation. *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 60(2), 77–84. doi:10.1016/j.phrs.2009.02.010
- Di Marzo, V. (2010). Anandamide serves two masters in the brain. *Nature Neuroscience*, 13(12), 1446–8. doi:10.1038/nn1210-1446

- Di Marzo, V., & De Petrocellis, L. (2012). Why do cannabinoid receptors have more than one endogenous ligand? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 367(1607), 3216–28. doi:10.1098/rstb.2011.0382.
- Di Marzo, V., Melck, D., Bisogno, T., & De Petrocellis, L. (1998). Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends in Neurosciences*, 21(12), 521–8. PMID: 9881850
- Di Marzo, V. & Pop, E. (2004). The Chemical Constituents of Cannabis Sativa and the Endocannabinoid System. In Di Marzo, V., *Canabinoids* (pp. 1–7). Eurekah/Landes Bioscience
- Drago, F. (2007). Endocannabinoids and psychopathology: the therapy inside. *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 56(5), 357–9. doi:10.1016/j.phrs.2007.09.007
- EMA (2008). Esclarecimento da Recomendação de Suspensão da Autorização de Comercialização de Acomplia®, Avaliação de Pós-Autorização de Produtos Médicos de Uso Humano. Disponível em [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Medicine\\_QA/2009/11/WC500014779.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Medicine_QA/2009/11/WC500014779.pdf)
- Engels, F. K., de Jong, F. a, Mathijssen, R. H. J., Erkens, J. a, Herings, R. M., & Verweij, J. (2007). Medicinal cannabis in oncology. *European Journal of Cancer*, 43(18), 2638–44. doi:10.1016/j.ejca.2007.09.010
- Erdozain, A. M., & Callado, L. F. (2011). Involvement of the endocannabinoid system in alcohol dependence: the biochemical, behavioral and genetic evidence. *Drug and Alcohol Dependence*, 117(2-3), 102–10. doi:10.1016/j.drugalcdep.2011.02.003
- Fride, E. (2002). Endocannabinoids in the central nervous system--an overview. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 66(2-3), 221–33. doi:10.1054/plef.2001.0360

- Fonseca, B., Costa, M., Almada, M., Soares, A., Correia-da-Silva, G., & Teixeira, N. (2013). O Sistema Endocanabinóide – uma perspectiva terapêutica. *Acta Farmacêutica Portuguesa*, 2(2), 37–44.
- Gates, P. J., Albertella, L., & Copeland, J. (2014). The effects of cannabinoid administration on sleep: a systematic review of human studies. *Sleep Medicine Reviews*. doi:10.1016/j.smr.2014.02.005
- Giuffrida, A., & McMahon, L. R. (2010). In vivo pharmacology of endocannabinoids and their metabolic inhibitors: therapeutic implications in Parkinson's disease and abuse liability. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 91(3-4), 90–103. doi:10.1016/j.prostaglandins.2009.05.004
- Godoy-Matos, A., Guedes, E., Souza, L., Valério, C. (2006). O Sistema Endocanabinóide: Novo Paradigma no Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica*, 50, 390–399. PMID: 16767305
- Goutopoulos, A., & Makriyannis, A. (2002). From cannabis to cannabinergics: new therapeutic opportunities. *Pharmacology & Therapeutics*, 95(2), 103–17. PMID: 12182958
- Greineisen, W. E., & Turner, H. (2010). Immunoactive effects of cannabinoids: considerations for the therapeutic use of cannabinoid receptor agonists and antagonists. *International Immunopharmacology*, 10(5), 547–55. doi:10.1016/j.intimp.2010.02.012
- GW Pharmaceuticals. (2014) Disponível em <http://www.gwpharm.com/our-partners.aspx>

- Hill, A. J., Jones, N. a, Smith, I., Hill, C. L., Williams, C. M., Stephens, G. J., & Whalley, B. J. (2014). Voltage-gated sodium (NaV) channel blockade by plant cannabinoids does not confer anticonvulsant effects per se. *Neuroscience Letters*, 566, 269–74. doi:10.1016/j.neulet.2014.03.013
- Hillard, C. J. (2000). Biochemistry and pharmacology of the endocannabinoids arachidonylethanolamide and 2-arachidonylglycerol. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 61(1-2), 3–18. PMID: 10785538
- Hofmann, M. E., & Frazier, C. J. (2013). Marijuana, endocannabinoids, and epilepsy: potential and challenges for improved therapeutic intervention. *Experimental Neurology*, 244, 43–50. doi:10.1016/j.expneurol.2011.11.047
- Howard, P., Twycross, R., Shuster, J., Mihalyo, M., & Wilcock, A. (2013). Therapeutic Reviews. *Journal of Pain and Symptom Management*, 46(1), 142–149. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2013.05.002
- Grant, I., & Cahn, B. R. (2005). Cannabis and endocannabinoid modulators: Therapeutic promises and challenges. *Clinical Neuroscience Research*, 5(2-4), 185–199. doi:10.1016/j.cnr.2005.08.015
- Kang, J. G., & Park, C.-Y. (2012). Anti-Obesity Drugs: A Review about Their Effects and Safety. *Diabetes & Metabolism Journal*, 36(1), 13–25. doi:10.4093/dmj.2012.36.1.13
- Kim, J., Li, Y., & Watkins, B. a. (2011). Endocannabinoid signaling and energy metabolism: a target for dietary intervention. *Nutrition*, 27(6), 624–32. doi:10.1016/j.nut.2010.11.003
- Levin, F. R., Mariani, J. J., Brooks, D. J., Pavlicova, M., Cheng, W., & Nunes, E. V. (2011). Dronabinol for the treatment of cannabis dependence: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Drug and Alcohol Dependence*, 116(1-3), 142–50. doi:10.1016/j.drugalcdep.2010.12.010

- Lewis, S. E., & Maccarrone, M. (2009). Endocannabinoids, sperm biology and human fertility. *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 60(2), 126–31. doi:10.1016/j.phrs.2009.02.009
- Luis, J., Costa, G. P., Maia, L. O., Villares, J. C., & Fernandez, M. A. (2011). Neurobiologia da Cannabis: do sistema endocanabinoide aos transtornos por uso de Cannabis. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, 60(2), 111–122.
- Maione, S., Costa, B., & Di Marzo, V. (2013). Endocannabinoids: a unique opportunity to develop multitarget analgesics. *Pain*, 154 Suppl, S87–93. doi:10.1016/j.pain.2013.03.023
- Maker-Clark, G., & Patel, S. (2013). Integrative therapies for multiple sclerosis. *Disease-a-Month*, 59, 290–301. doi: 10.1016/j.disamonth.2013.03.017
- Manual Merck (2014) disponível em [www.manualmerck.net](http://www.manualmerck.net)
- Marsicano, G., & Chaouloff, F. (2012). Moving bliss: a new anandamide transporter. *Nature Neuroscience*, 15(1), 5–6. doi:10.1038/nn.3011
- Martin, B., Mechoulam, R., & Razdan, R. (1999). Discovery and characterization of endogenous cannabinoids. *Life Sciences*, 65(6/7), 573–595. PMID: 10462059
- Mcdonough, P., Mckenna, J. P., McCreary, C., & Downer, E. J. (2014). Neuropathic orofacial pain: Cannabinoids as a therapeutic avenue, *The International Journal of Biochemistry*, 55, 72–78. doi: 10.1016/j.biocel.2014.08.007
- Mechoulam, R. (2002). Discovery of endocannabinoids and some random thoughts on their possible roles in neuroprotection and aggression. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 66(2-3), 93–9. doi:10.1054/plf.2001.0340

- Mechoulam, R., Fride, E., & Di Marzo, V. (1998). Endocannabinoids. *European Journal of Pharmacology*, 359(1), 1–18. PMID: 9831287
- Mechoulam, R., & Hanus, L. (2000). A historical overview of chemical research on cannabinoids. *Chemistry and Physics of Lipids*, 108(1-2), 1–13. PMID: 11106779
- Melamede, R. (2009). Parasitic brain infection, endocannabinoids, and schizophrenia. *Medical Hypotheses*, 72(2), 220–2. doi:10.1016/j.mehy.2008.08.025
- Mendizábal, V. E., & Adler-Graschinsky, E. (2007). Cannabinoids as therapeutic agents in cardiovascular disease: a tale of passions and illusions. *British Journal of Pharmacology*, 151(4), 427–40. doi:10.1038/sj.bjp.0707261
- Micale, V., Mazzola, C., & Drago, F. (2007). Endocannabinoids and neurodegenerative diseases. *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 56(5), 382–92. doi:10.1016/j.phrs.2007.09.008
- Montecucco, F., Matias, I., Lenglet, S., Petrosino, S., Burger, F., Pelli, G., ... Di Marzo, V. (2009). Regulation and possible role of endocannabinoids and related mediators in hypercholesterolemic mice with atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 205(2), 433–41. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2008.12.040
- Murillo-Rodríguez, E. (2008). The role of the CB1 receptor in the regulation of sleep. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 32(6), 1420–7. doi:10.1016/j.pnpbp.2008.04.008
- Nutt, D. J., King, L. A., & Nichols, D. E. (2013). Effects of Schedule I drug laws on Neuroscience Research and Treatment innovation. *Nature Reviews Neuroscience*, 14, 577–585. doi: 10.1038/nrn3530
- Pacher, P., & Kunos, G. (2013). Modulating the endocannabinoid system in human health and disease--successes and failures. *The FEBS Journal*, 280(9), 1918–43. doi:10.1111/febs.12260

- Padwal, R. S., & Majumdar, S. R. (2007). Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. *Lancet*, 369(9555), 71–7. doi:10.1016/S0140-6736(07)60033-6
- Pandey, R., Mousawy, K., Nagarkatti, M., & Nagarkatti, P. (2009). Endocannabinoids and immune regulation. *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 60(2), 85–92. doi:10.1016/j.phrs.2009.03.019
- Pazos, M. R., Núñez, E., Benito, C., Tolón, R. M., & Romero, J. (2005). Functional neuroanatomy of the endocannabinoid system. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 81(2), 239–47. doi:10.1016/j.pbb.2005.01.030
- Penumarti, A., & Abdel-Rahman, A. a. (2014). The Novel Endocannabinoid Receptor GPR18 is Expressed in the Rostral Ventrolateral Medulla and Exerts Tonic Restraining Influence on Blood Pressure. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 349, 29-38. doi:10.1124/jpet.113.209213
- Pertwee, R. G. (1997). Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacology & Therapeutics*, 74(2), 129–80. PMDI: 9336020
- Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Reviews. Neuroscience*, 4(11), 873–84. doi:10.1038/nrn1247
- Pisanti, S., & Bifulco, M. (2009). Endocannabinoid system modulation in cancer biology and therapy. *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 60(2), 107–16. doi:10.1016/j.phrs.2009.03.011
- Porter, a C., & Felder, C. C. (2001). The endocannabinoid nervous system: unique opportunities for therapeutic intervention. *Pharmacology & Therapeutics*, 90(1), 45–60. PMDI: 11448725
- Proença da Cunha, A., e Roque, O. (2009). Produtos resinosos. Fármacos resinosos inscritos na F.P. VIII. In Proença da Cunha, A. *Farmacognosia e Fitoquímica* (pp.428-429). Fundação Calouste Gulbenkian



- Rademacher, D. J., & Hillard, C. J. (2007). Interactions between endocannabinoids and stress-induced decreased sensitivity to natural reward. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 31(3), 633–41. doi:10.1016/j.pnpbp.2006.12.013
- Rahn, E. J., & Hohmann, A. G. (2009). Cannabinoids as pharmacotherapies for neuropathic pain: from the bench to the bedside. *Neurotherapeutics : The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 6(4), 713–37. doi:10.1016/j.nurt.2009.08.002
- Rueda-Orozco, P. E., Soria-Gómez, E., Montes-Rodríguez, C. J., Pérez-Morales, M., & Prospéro-García, O. (2010). Intrahippocampal administration of anandamide increases REM sleep. *Neuroscience Letters*, 473(2), 158–62. doi:10.1016/j.neulet.2010.02.044
- Schmidt, W., Schäfer, F., Striggow, V., Fröhlich, K., & Striggow, F. (2012). Cannabinoid receptor subtypes 1 and 2 mediate long-lasting neuroprotection and improve motor behavior deficits after transient focal cerebral ischemia. *Neuroscience*, 227, 313–26. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.09.080
- Serpell, M. G., Notcutt, W., & Collin, C. (2013). Sativex long-term use: an open-label trial in patients with spasticity due to multiple sclerosis. *Journal of Neurology*, 260(1), 285–95. doi:10.1007/s00415-012-6634-z
- Sharkey, K. a, Darmani, N. a, & Parker, L. a. (2014). Regulation of nausea and vomiting by cannabinoids and the endocannabinoid system. *European Journal of Pharmacology*, 722, 134–46. doi:10.1016/j.ejphar.2013.09.068
- Starowicz, K., & Di Marzo, V. (2013). Non-psychotropic analgesic drugs from the endocannabinoid system: “magic bullet” or “multiple-target” strategies? *European Journal of Pharmacology*, 716(1-3), 41–53. doi:10.1016/j.ejphar.2013.01.075

- Starowicz, K., & Przewlocka, B. (2012). Modulation of neuropathic-pain-related behaviour by the spinal endocannabinoid/endovanilloid system. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 367(1607), 3286–99. doi:10.1098/rstb.2011.0392
- Sulcova, E., Mechoulam, R., & Fride, E. (1998). Biphasic effects of anandamide. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 59(2), 347–52. PMID: 9476980
- Taylor, A. H., Amoako, A. a, Bambang, K., Karasu, T., Gebeh, A., Lam, P. M. W., ... Konje, J. C. (2010). Endocannabinoids and pregnancy. *Clinica Chimica Acta, International Journal of Clinical Chemistry*, 411(13-14), 921–30. doi:10.1016/j.cca.2010.03.012
- Vemuri, V., e Makriyannis, A., (2009). Endocannabinoids and Their Synthetic Analogs. In Reggio, P. *The Cannabinoid Receptors* (pp. 21-48). Humana Press.
- Vemuri, V., e Makriyannis, A. (2008). Pharmacotherapeutic targeting of the endocannabinoid signaling system: drugs for obesity and the metabolic syndrome. *Physiology & Behavior*, 93(4-5), 671–86. doi:10.1016/j.physbeh.2007.11.012
- Yuan, HB., & Ho, ST. (2014). Cannabis in pain medicine still has a long way to go. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, 51(2013), 139–140. doi: 10.1016/j.aat.2013.12.006
- Zanettini, C., Panlilio, L. V, Alicki, M., Goldberg, S. R., Haller, J., & Yasar, S. (2011). Effects of endocannabinoid system modulation on cognitive and emotional behavior. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 5 (September), 57. doi:10.3389/fnbeh.2011.00057